ISSN 0181-1584

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 7 Fascicule 2 1986

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, RUE BUFFON, 75005 PARIS

PUBLICATION TRIMESTRIELLE

Juin 1986

SOMMAIRE

CONTENTS

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 7 Fascicule 2 1986

Ancienne Revue de Mycologie. Dirigée par Roger HEIM

DIRECTEUR DE LA PUBLICATION : Madame J. NICOT.

ADMINISTRATION : Mme LOCQUIN-LINARD M. et M. ZAMBETTAKIS Ch.

SECRÉTAIRE DE RÉDACTION : Mme M.C. BOISSELIER. ÉDITEUR : A.D.A.C.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE est indexé par : *Biological Abstracts, Current Contents,* Publications bibliographiques du CDST (Pascal).





Cryptogamie, Mycol. 1986, 7 (2) : 95-112

Georges VIENNOT-BOURGIN
(17 avril 1906 - 8 février 1986)

par Patrick JOLY



Né en Bourgogne, à Fontaine-Française (Côte d'Or), le jeune Georges vécut chez ses parents adoptifs, son oncle Hubert et sa tante Marguerite BOURGIN; le premier enseignait les Lettres au Lycée Louis-le-Grand, la seconde les Sciences au Lycée Fénelon. Il leur demeura profondément attaché, accordant avec une fierté reconnaissante une valeur extrême à porter leur patronyme uni au sien, et affirmant volontiers qu'il leur devait à tous les deux le goût des études, qui l'accompagnera tout au long de sa vie scientifique, ainsi que sa vocation d'enseignant. S'il apprit surtout d'Hubert BOURGIN l'art de s'exprimer et de traduire sa pensée, art qu'il cultivait amoureusement dans ses exposés magistraux, mais aussi dans sa correspondance personnelle, c'est peut-être plutôt Marguerite BOURGIN qui éveilla de bonne heure son intérêt pour les Sciences Naturelles; âgé d'une quinzaine d'années, à peine, il constitue déjà un herbier et compose une collection d'insectes déterminés avec l'aide de Pierre LESNE, au Muséum National d'Histoire Naturelle.

Ses études générales achevées, il est admis en 1925 à l'École Nationale d'Agriculture de Grignon; c'est sa «*seconde période heureuse*», le temps où il vit près de la nature, hante les bois, herborise à loisir, fréquente la «falunière». Il est Ingénieur agricole en 1927 et, quelques semaines plus tard, entre comme préparateur-stagiaire à la Station de Pathologie végétale, alors annexée au Laboratoire de Botanique de l'Institut National Agronomique. Il débute ainsi sa carrière de chercheur, guidé par Vital DUCOMET qui se préoccupe à cette époque du comportement des blés à l'égard des rouilles, de la lutte contre les piétins des céréales, et des «maladies de dégénérescence» de la pomme de terre. Ses obligations militaires accomplies, Georges VIENNOT-BOURGIN devient en 1929 répétiteur de la chaire de Botanique et Pathologie Végétale de l'École Nationale d'Agriculture de Grignon et, dès l'année suivante, en 1930, est nommé chef de travaux de cette même chaire.

En 1931, Vital DUCOMET signale l'apparition en France du mildiou du houblon qui causera des ravages considérables en Bourgogne et en Alsace, ainsi qu'en Grande-Bretagne et en Bavière. Ayant apprécié les qualités de Georges VIENNOT-BOURGIN, il lui confie l'étude de ce problème et lui demande, en particulier, de vérifier l'hypothèse émise par SALMON, au Collège de Wye, selon laquelle il pourrait s'agir d'une extension fortuite d'un *Peronospora* spontané, jusqu'ici inféodé à l'*Urtica urens*. Précisant l'existence de deux espèces de Péronosporales, au moins, capables de parasiter le genre *Urtica*, il montre que le passage de l'une d'elles au houblon ne saurait être qu'occasionnel et, en tout état de cause, ne peut être à l'origine de l'épidémie. S'agissant donc d'une introduction, ce que montrent les études systématiques, il faut orienter les recherches vers la lutte préventive.

Ce travail à peine achevé, l'extension rapide en Europe de la carie du seigle constitue une nouvelle menace. S'agirait-il d'une race physiologique du *Tilletia caries* du blé récemment adaptée au seigle ? Georges VIENNOT-BOURGIN a fait ses preuves; Vital DUCOMET fait confiance et lâche résolument la bride : c'est le départ de l'essor personnel, les recherches sur les Ustilaginales et les maladies charbonneuses qui le mèneront à sa thèse de doctorat de l'Université de Paris, soutenue en 1937 sur le thème : «*Les déformations parasitaires provoquées par les Ustilaginées*». Chemin faisant, il se persuade peu à peu de la nécessité, soupçonnée dès son travail sur le mildiou du houblon, d'une identification précise des champignons parasites, concept qu'il érigera plus tard en principe : «*Nous avons établi définitivement que la rigueur systématique, lorsqu'elle n'est pas diminuée par la discussion stérile, constitue l'un des éléments essentiels qui confèrent à la Pathologie végétale son rang de Science*». (Notice de candidature à l'Académie d'Agriculture de France, 1963).

Il lui faut donc, conjointement à ses recherches de Pathologie végétale, devenir systématicien des champignons parasites. Il le fera d'abord en herborisant : de 1931 à 1938, il publie une huitaine de travaux sur la systématique et la floristique des micromycètes de l'Ile de France, une note sur la flore cryptogamique du Valais suisse et deux sur celle de l'Ile de Madère où il effectue un séjour en 1936. Mais il lui faut aller au delà, se perfectionner : par l'entremise de Louis



MANGIN qui avait été autrefois professeur au Lycée Louis-le-Grand comme l'était Hubert BOURGIN, il prend contact avec son successeur à la Chaire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle, Pierre ALLORGE, qui l'accueille et le dirige vers Roger HEIM. Non seulement Georges VIENNOT-BOURGIN, devenu Correspondant du Muséum à partir de 1941, fréquentera ce laboratoire jusqu'à la fin de sa vie, même après avoir quitté celui de l'Institut National Agronomique, mais il nouera avec Roger HEIM une amitié profonde et durable.

Ainsi, dès avant 1938, se profile la silhouette de la personnalité scientifique de Georges VIENNOT-BOURGIN : le pathologiste plaçant en préalable à toute étude la connaissance précise et rigoureuse des champignons parasites impliqués ou potentiels, et le mycologue herborisant dès que ses occupations lui en laissent le loisir, tant par «goût des études» dans une nature qui l'attire que pour satisfaire à son axiome de nécessité de toujours mieux connaître le monde des cryptogames parasites. «... *Pour l'instant, je cherche un peu à oublier tout cela devant le magnifique décor de la flore alpine. Le soleil splendide incite en promenades qui ne sont en fait que de longues herborisations; mes dossiers se remplissent en même temps que les carnets de notes. J'ai déjà trouvé des choses intéressantes sur* Sesleria *et* Melica. *Mon séjour sera prolongé cet hiver par le dépouillement au micro.» (in litt.,* Pelvoux, 17 août 1948).

A partir de 1938, l'année qui suit la soutenance de sa thèse et l'attribution d'une médaille d'or de l'Académie d'Agriculture de France, Georges VIENNOT-BOURGIN cumule à l'École Nationale d'Agriculture de Grignon la fonction de maître de conférences de Zoologie et de Géologie avec celle de chef de travaux

de Botanique et Pathologie végétale qu'il exerçait depuis 1930. Poursuivant ses travaux de floristique métropolitaine qui lui font recueillir en 1939 le prix Gandoger de la Société Botanique de France, achevant ceux concernant l'Ile de Madère et abordant le problème de la protection sanitaire des cultures de lin, il développe encore, pendant cette période, ses importantes recherches sur les rouilles jaunes des céréales et des Graminées et, surtout, sur les tavelures des Rosacées et la «morphose cladosporioïde» du *Fusicladium pirinum*. Pour ces travaux, il recevra le prix Montagne de l'Institut de France (Académie des Sciences) en 1944, alors qu'il vient de quitter provisoirement l'enseignement : détaché dans un laboratoire privé pendant un peu plus de quatre années, il y participera à la transposition dans le domaine industriel des données théoriques acquises à propos des produits anticryptogamiques et étudiera le problème du désherbage sélectif des cultures de céréales et de lin; il obtiendra pour cela, en 1950, la médaille Jollivet de la Société d'Encouragement pour l'Industrie nationale.

Chargé de cours à l'Office de la Recherche scientifique Outre-Mer en 1946, alors qu'il est encore détaché dans l'industrie, Georges VIENNOT-BOURGIN revient définitivement à l'enseignement en 1948, étant nommé maître de conférences de Botanique et Pathologie végétale à l'Institut National Agronomique. Il achève à cette époque la rédaction de son traité magistral de Pathologie végétale : «*Les champignons parasites des plantes cultivées*», somme de 1848 pages en deux volumes, publié en 1949 par les éditions Masson. Cette œuvre lui fera recevoir en 1950 une seconde médaille d'or de l'Académie d'Agriculture de France et constituera pendant plusieurs décennies l'ouvrage de référence concernant la Pathologie végétale métropolitaine. Nommé directeur du laboratoire de recherche annexé au Laboratoire de Botanique et Pathologie végétale de l'Institut Agronomique en 1950, exerçant à partir de la même année les fonctions d'Inspecteur délégué du Service de la Protection des Végétaux et celles d'expert près les Tribunaux, il succèdera en 1951 à André MAUBLANC comme professeur de Botanique et Pathologie végétale à l'Institut National Agronomique, charge qu'il assumera jusqu'à son départ à la retraite en 1977.

Accédant pleinement à l'enseignement supérieur agronomique, Georges VIENNOT-BOURGIN va pouvoir révéler ses remarquables qualités pédagogiques. Mais il aura aussi à cœur de faire rayonner son enseignement largement en dehors de l'Institut National Agronomique : en 1956, il est chargé de mission au Congrès de l'Enseignement agricole à Rome; de 1960 à 1976, il participe chaque année au cours de Mycologie médicale dispensé par l'Institut Pasteur; il le fera également de 1962 à 1975 à l'Institut National Agronomique de Tunis et de 1969 à 1979 à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat; il enseigne encore en Iran (juillet 1957, mars-avril 1968, juillet 1974, mai 1977), en Israël (mai 1961, mai 1965), aux Facultés des Sciences d'Alger (1962, 1970) et de New Delhi (1971).

Il rédige à l'intention des étudiants en agronomie un «Cours de Pathologie végétale» (éditions C.D.U., 1956) et des monographies sur les champignons, bactéries et virus nuisibles aux arbres fruitiers (*ibid.*, 1961), à la vigne (*ibid.*,

1961), à la pomme de terre (*ibid.*, 1963). Bien plus, il a voulu étendre son activité pédagogique au delà du monde étudiant : au cours de son détachement dans l'industrie, il avait perçu le besoin ressenti par les agriculteurs et les horticulteurs de pouvoir bénéficier de cet enseignement particulier, mais véritable, qu'est une large diffusion du message scientifique et de l'amélioration des pratiques qu'il peut engendrer. Il tint à le faire d'abord, au travers de revues professionnelles (*L'Ile-de-France agricole, Agriculture, L'Agriculture pratique*), sur les thèmes mêmes qui avaient motivé son détachement : défense des cultures maraîchères et des plantes de grande culture, lutte contre la carie du blé, l'ergot du seigle, etc. Mais son domaine d'élection deviendra rapidement celui des productions fruitières, encore par le canal de revues (*Agriculture, Fruits d'Outre-Mer, Phytoma, ...*) ou par celui de sa participation active à des congrès d'arboriculture (Congrès pomologiques de France à Perpignan en 1947, Angers en 1948, Bourges en 1949, ..., 5ème Congrès d'agrumiculture en Israël, en 1956, etc.). Enfin, il tint à mettre entre les mains des arboriculteurs une série de trois remarquables ouvrages portant respectivement sur «*Les champignons parasites des arbres fruitiers à pépins*» (édit. Ponsot, 1966), «*Les champignons parasites des arbres fruitiers à noyau*» (*ibid.*, 1966) et «*Bactérioses et viroses des arbres fruitiers*» (*ibid.*, 1968).

Tel fut l'enseignant : Georges VIENNOT-BOURGIN a souhaité s'adresser à la fois aux étudiants en agronomie, de France et de l'étranger, et aux professionnels, tant en donnant de sa personne pendant ses cours, ses conférences ou dans les congrès, qu'en s'astreignant à rédiger des polycopiés, des articles de revues ou des ouvrages. Force est de constater que, face aux deux auditoires et sous les diverses formes qu'il a utilisées, il a pleinement réussi grâce à ses qualités d'expression, de travail, de conscience.

Viennent aussi les charges diverses, malheureusement assorties des «*hantises de l'agenda où s'alignent trop souvent dans une décevante chronologie, les devoirs, les obligations absurdes, et bien peu de moments utilement consacrés*» (*in litt.*, Viroflay, 12 mai 1967). Georges VIENNOT-BOURGIN les a toutes acceptées mais nous n'évoquerons ici que les premières en nous attachant aux principales : chef de la division phytosanitaire à l'Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer de 1959 à 1967; membre du Comité National de la Recherche Scientifique (Section de Botanique et Biologie végétale) de 1960 à 1965; membre du Conseil Supérieur de la Recherche Agronomique de 1965 à 1973. Ajoutons encore, parmi les nombreuses missions officielles, quelques-unes de celles qu'il a accomplies à l'étranger : Liban (1959), Madagascar (1962) et Côte d'Ivoire (1963) pour le compte de l'O.R.S.T.O.M., Israël (1961, 1974) pour étudier l'extension de la tristeza des agrumes dans le Bassin méditerranéen, Algérie et Maroc (1962, 1972) pour estimer les dégâts du bayoud des palmiers-dattiers, Turquie (1965) pour examiner l'état sanitaire des vergers d'abricotiers et de pommiers, Italie (1965) pour évaluer l'impact des maladies des pêchers, Guadeloupe et Martinique (1969) pour l'I.N.R.A., Grèce (1980) pour une enquête sur le dépérissement des châtaigniers, etc.

L'activité scientifique de Georges VIENNOT-BOURGIN, pour sa part, n'est

nullement ralentie par les efforts et le temps qu'il consacre à son enseignement, ni par le soin avec lequel il assume toutes ses charges. Elle se développe, au contraire, mais va progressivement s'infléchir vers la systématique, sous l'effet de sa conviction, déjà évoquée mais qui s'intègre maintenant à sa personnalité scientifique, selon laquelle *«la connaissance des organismes pathogènes est le fondement indispensable des recherches en Pathologie végétale»* (*loc. cit.*, 1963). De surcroît, ayant déjà étudié la flore cryptogamique du Valais suisse (1936, 1944), il tient à participer en 1948 au Colloque franco-suisse de Neuchâtel et y rencontre Eugène MAYOR qui possède une longue expérience de la systématique des micromycètes parasites et, plus particulièrement, des groupes auxquels s'intéresse Georges VIENNOT-BOURGIN : Péronosporales, Urédinales, Ustilaginales, Erysiphacées et Taphrinacées. Il s'établit immédiatement une collaboration amicale, vite assortie d'une amitié vraie, qui se traduira par des publications conjointes sur la flore mycologique de la région de Neuchâtel (1948), du Languedoc et de Provence (1949), de Corse (1950), du Valais (1960), etc.

Aussi, si Georges VIENNOT-BOURGIN publie encore de nombreux travaux de recherche sur les maladies cryptogamiques des arbres fruitiers, des céréales, de l'oignon, de la pivoine, du bégonia, de la pensée, du glaïeul, des rhododendrons et autres plantes ornementales, du haricot, du lin, du cyprès, du palmier à huile, etc., ou encore sur la flore du sol et de la rhizosphère, il va de plus en plus s'attacher à la systématique des micromycètes parasites dont il deviendra rapidement le meilleur spécialiste de la flore métropolitaine spontanée et introduite, et cela non seulement pour les groupes qu'il affectionne mais aussi pour l'ensemble des micromycètes. Cette orientation de ses recherches culmine avec la publication en 1956, sept ans seulement après «*Les champignons parasites des plantes cultivées*», de sa seconde œuvre magistrale qui, cette fois, est d'ordre systématique : «*Mildious, oïdiums, caries, charbons, rouilles des plantes de France*» (édit. Lechevalier), comportant un volume de texte et un atlas regroupant 1800 dessins au trait.

En même temps, la double amitié que Georges VIENNOT-BOURGIN avait nouée avec Roger HEIM d'une part, avec Eugène MAYOR d'autre part, l'avait amené à s'intéresser à la systématique des flores tropicales : en 1949, l'un et l'autre lui confient pour étude des récoltes africaines, en partie personnelles pour le premier, faites par Claude FAVARGER en Côte d'Ivoire pour le second. Viennent alors les missions de prospection botanique, en Côte d'Ivoire (juillet à septembre 1951), en Guinée (décembre 1956 - janvier 1957), en Iran (juillet à septembre 1957), missions lointaines enrichissantes mais dures, et dont paraît doux le retour : *«Après près de deux mois passés dans la poussière chaude des plateaux d'Iran, dans la senteur des ruelles au long des mosquées ventrues, dans une société inquiète, mystérieuse et mystique, mon grand bonheur a été de retrouver l'occident, les Alpes, les lacs jurassiens, le bleu voilé du ciel de Paris, ma famille, mon laboratoire»*. (*in litt.*, Viroflay, 14 septembre 1957). Le fruit de ces missions et l'examen de matériel confié par d'autres prospecteurs a permis à Georges VIENNOT-BOURGIN de publier non seulement son importante série de travaux sur les Urédinales d'Afrique, mais encore divers mémoires sur



les Ustilaginales et micromycètes variés d'Afrique, de Madagascar, d'Iran, du Viêt-Nam, etc.

Nul ne fut donc surpris que cette immense activité, tant pédagogique et administrative que scientifique, ait été sanctionnée de distinctions pleinement méritées : il est Officier du Mérite Agricole en 1951, Officier des Palmes Académiques en 1953, Chevalier (1954) puis Officier (1983) de la Légion d'Honneur. L'Académie d'Agriculture de France, qui par deux fois lui avait attribué une médaille d'or, le choisit comme membre correspondant en 1959, le fait entrer pleinement en son sein en 1963 et l'élit président pour l'année 1983. Il était également membre de l'Académie Nationale d'Agriculture Italienne, lauréat de l'Académie des Sciences (1968) pour l'ensemble de son œuvre. Enfin, en 1980, l'Union Phytopathologique méditerranéenne lui attribue une médaille d'or au cours de son congrès de Patras (Grèce) et, la même année, l'American Phytopathological Society le nomme «membre émérite».

Toutefois, l'œuvre accomplie par Georges VIENNOT-BOURGIN, et son cheminement scientifique tel que je viens d'essayer de le retracer, montrent bien le soin, la volonté de rigueur, voire de perfection, qu'il apportait à ce qu'il faisait, mais ne constituent que la face apparente de ce qu'il était réellement. D'aucuns ont pu croire ses qualités excessives, trompés par cette image superficielle d'un homme un peu solennel dans ses exposés ou ses fonctions officielles, ou quelque peu distant lorsqu'il s'enfermait dans son laboratoire. Ils n'ont vu que l'enseignant hanté par le désir de faire toujours mieux, au risque d'aller trop loin, ou le scientifique accaparé par son travail, mais ils n'ont pas connu l'homme

qui ressurgissait, aussitôt la fonction remplie ou la tâche accomplie, disponible, prêt à livrer ses connaissances encyclopédiques, affable, plein de gentillesse, en réalité assoiffé de contact humain car pour lui, au plus profond de lui-même, ce qu'il faisait avec tant de cœur était indissociable de ce qu'il vivait : l'évocation de ses rapports avec Roger HEIM et Eugène MAYOR montre bien, et je l'ai également vécu, qu'il était dominé par la nécessité de fondre intérêt scientifique commun et amitié profonde.

Georges VIENNOT-BOURGIN était homme de dialogue, et son attachement pour les Sociétés scientifiques venait de ce besoin qu'il avait de rencontrer les autres. Dès le début de sa carrière, il fréquente volontiers la Société de Pathologie végétale et d'Entomologie agricole et, dès 1937, la Société Botanique de France. Si la seconde mit ses activités en sommeil pendant la guerre pour reprendre une vie normale après 1945, la première s'éteignit. Désemparé, il chercha désespérément à la faire renaître, bousculant Roger HEIM, Alfred BALACHOWSKY et Paul VAYSSIÈRE pour qu'ils l'aident à reconstituer la liste des membres dispersés, puis se résignant à le faire seul, essayant de réunir quelques fonds, constituant un bureau provisoire, élaborant un projet de statuts d'une revue qu'il souhaitait voir paraître à nouveau. Il parvint à ressusciter la société et sa revue, mais elles s'orientèrent peu à peu vers la seule Zoologie : alors il vint en 1949 vers la Société Mycologique de France. Sociétaire toujours actif, il présidera la Société Botanique de France de 1959 à 1961, la Société Mycologique de France de 1964 à 1967 et en sera nommé membre d'honneur en 1980. Se joignant encore à l'Union Phytopathologique méditerranéenne, il la présidera de 1971 à 1976. Enfin, lorsque la Société de Pathologie végétale et d'Entomologie agricole, qu'il avait fait renaître, abandonnera définitivement la Pathologie végétale pour se fondre avec la Société Entomologique de France, il n'aura de cesse de reconstituer un forum au sein duquel il puisse rencontrer les pathologistes, dialoguer, vivre avec eux : c'est la Société Française de Phytopathologie, fondée le 12 mai 1971, dont il fut le président-fondateur de 1971 à 1974.

Homme de contact humain, il lui était impossible de nous apercevoir, nous «*les jeunes*» pour reprendre son expression familière, sans nous appeler et sortir d'une poche un échantillon fraîchement récolté dans son jardin de Viroflay ou dans celui de Crosne, ou encore rapporté de quelque excursion, nous le montrer, le commenter, solliciter éventuellement notre avis ou nous demander de l'étudier et, naturellement, nous en remettre un fragment «*pour notre herbier*». Ou bien s'il me trouvait le soir, venant rejoindre quelque compagnon dans son laboratoire presque vide, il nous entraînait dans son bureau pour nous présenter une préparation microscopique, ou tout autre objet de son travail de la journée; puis nous parlions, de ce qu'il faisait et de ce que nous faisions. Ce n'était pas le maître, c'était l'homme qui avait besoin de partager ce qu'il vivait et ce que nous vivions.

LISTE DES PUBLICATIONS DE G. VIENNOT-BOURGIN

compilée par D. LAMY

1928 - Note sur un *Vincetoxicum officinale* Moench. *Bull. Soc. Sci. Nat. Seine-et-Oise* sér. 2, 9 : 115.

1929 - Note sur le *Bremia lactucae* (Regel) ou Meunier des Laitues. *Bull. Soc. Sci. Nat. Seine-et-Oise* sér. 2, 10 : 4-5.

1931 - *Pseudoperonospora* et *Peronospora* des Orties. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 18 : 151-153, pl. 8.

1931 - Récoltes pathologiques du mois de mars 1931 sur le domaine de l'École de Grignon (S.-et-O.) ou aux environs. *Ibidem* 18 : 111-112.

1931 - *Idem* (mois d'avril 1931). *Ibidem* 18 : 168-169.

1931 - *Idem* (mois de mai 1931). *Ibidem* 18 : 234-235.

1931 - *Idem* (mois de juin 1931). *Ibidem* 18 : 236-238.

1931 - *Idem* (mois de juillet, août, septembre 1931). *Ibidem* 18 : 299-302.

1931 - Un mode particulier d'attaque de *Cystopus candidus* (Pers.). *Ibidem* 18 : 239.

1932 - Une Ustilaginée nouvelle pour la France : *Ustilago oxalidis* Ellis et Tracy parasite d'*Oxalis stricta* L. *Ibidem* 19 : 17-23.

1932 - Le comportement de quelques variétés de blé à l'égard du froid. *Ibidem* 19 : 238-247, pl. 8.

1932 - Essais sur la carie du blé. *Ibidem* 19 : 257-284, pl. 10.

1932 - Les effets secondaires de la carie du blé. Dommages causés aux feuilles et aux feuillages. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 18 : 1144-1146.

1933 - Les Urédinées de l'*Adoxa moschatellina* L. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 20 : 30-36.

1933 - Notes sur quelques Urédinales et Ustilaginales observées en 1931-1932 dans le département de Seine-et-Oise (région sud). *Ibidem* 20 : 85-114.

1933 - Contribution à l'étude des Urédinales de Seine-et-Oise (6ème note) : de quelques Urédinales rares ou nouvelles, observées dans le département de Seine-et-Oise. *Ibidem* 20 : 280-289, pl. 7.

1933 - Deux Ustilaginales nouvelles pour la France. *Bull. Soc. Sci. Nat. Seine-et-Oise* sér. 3, 1 : 57-60.

1934 - Contribution à l'étude des Urédinales en Seine-et-Oise (7ème note). De l'activité de *Puccinia glumarum* (Erikss. et Henn.) en période hivernale dans le département de Seine-et-Oise (région sud). *Ibidem* sér. 3, 2 : 21-36.

1934 - De l'influence des facteurs climatiques en 1933 et 1934 sur le développement de quelques parasites cryptogames. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 20 : 839-843.

1934 - Les Urédinées pérennantes. Conférence des Sociétés savantes de Seine-et-Oise. Versailles.

1935 - Contribution à l'étude des cryptogames de Seine-et-Oise (9ème note). Notes sur les Urédinales et les Ustilaginales observées en 1933-1934 dans le département de Seine-et-Oise (région sud). *Bull. Soc. Sci. Nat. Seine-et-Oise* sér. 3, 3 : 1-17.

1935 - Sur les dégâts occasionés par *Cnephasia vigaureana* Treit., dans les cultures de Fraisiers. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 22 : 115-122, pl. 1.

1935 - Contribution à l'étude des cryptogames de Seine-et-Oise (10ème note). Sur la présence d'*Ustilago tritici* (Pers.) Jens. sur les feuilles de blé (et) Étude anatomique et microscopique des fleurs de blé charbonné. *Ibidem* 22 : 181-199, 4 pl.

1936 - Contribution à l'étude de la flore cryptogamique du Valais (Suisse). *Ibidem* 23 : 33-77, 5 pl.

1937 - Contribution à l'étude de la flore cryptogamique du bassin parisien (11ème note): Deux espèces nouvelles. *Ibidem* 24 : 78-85, 2 pl.

1937 - Deux *Entyloma* de l'Ile de Madère. *Rev. Mycol. (Paris)* 2 : 118-124, 3 fig., pl. 6.

1937 - Les déformations parasitaires provoquées par les Ustilaginées. Paris, E. Le François. 189 p., ill. (Thèse).

1937 - Notes biologiques sur quelques Ustilaginées nouvelles ou peu connues en France. Contribution à l'étude cryptogamique du bassin de la Seine (13ème note). *Ann. École Natl. Agric. Grignon* sér. 2, 1 : 175-203, 6 fig.

1937 - Tavelures des arbres fruitiers. Journées de la lutte chimique contre les ennemis des cultures. [redacted] p. (A. MAUBLANC et G. VIENNOT-BOURGIN).

1938 - Étude de la flore cryptogamique de l'Ile de Madère (2ème note). Une espèce nouvelle de *Tilletia*. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 25 : 156-162, 1 pl.

1938 - Sur l'emploi des bandes-pièges dans la lutte contre le carpocapse (*Laspeyresia pomonella* L.). *Ibidem* 25 : 85-93, 1 pl.

1939 - Contribution à l'étude de la flore cryptogamique du bassin de la Seine (14ème note). A propos de deux *Uromyces* parasites des Légumineuses : *Uromyces briardii* Hariot et *Uromyces anthyllidis* (Grev.) Schroet. *Ibidem* 26 : 66-92, 3 pl.

1939 - Sur la répartition géographique actuelle de quelques espèces de cryptogames parasites. Compt. Rend. Travaux 14ème Conf. Soc. Sav. Litt. Art. Seine-et-Oise (Versailles, 1938). Versailles : 149-152.

1939 - Observations mycologiques succédant à la période de froid de l'hiver 1938-1939. *Sci. Nat.* 1 : 182-189.

1939 - Contribution à la connaissance de la mycoflore de l'archipel de Madère. *Ann. École Natl. Agric. Grignon* sér. 3, 1 : 69-169, 2 fig., 5 pl.

1940 - *Botrytis cinerea* parasite des cultures de lin en France (note préliminaire). *Rev. Mycol. (Paris)* 5 : 55-63, 2 fig., pl. 2.

1941 - Étude critique de la rouille jaune des céréales; isolement de quelques-unes de ses races physiologiques. *Bull. Ligue Natl. Défense Ennemis Cultures.*

1941 - La rouille jaune des Graminées. Étude morphologique et biologique de *Puccinia glumarum* (Schm.) Eriks. et Henn., de ses races physiologiques et de quelques espèces d'Urédinées appartenant au groupe morphologique *Puccinia rubigo-vera* (DC) Wint. *Ann. École Natl. Agric. Grignon* sér. 3, 2 : 129-217, 22 fig.

1941 - Les ennemis du champignon de couche. *Rev. Mycol. Suppl.* 6 (1) : 6-20.

1941 - Morphose cladosporioïde chez *Fusicladium pirinum*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 213 : 701-704 (G. VIENNOT-BOURGIN et A. SACCAS).

1942 - Contribution à la connaissance des tavelures des Rosacées : 1ère note. Un *Fusicladium* sur *Crataegus pyracantha* Medik. *Rev. Mycol. (Paris)* «1941» 1942, 6 : 147-155, 2 fig.

1942 - Les pourritures des agrumes sur le marché français. Caractères biologiques et culturaux. *Rev. Mycol. Suppl.* 7 (1) : 4-12, 1 pl.

1942 - Contribution à l'étude de la flore cryptogamique du bassin de la Seine (15ème note). Étude de quelques champignons parasites. *Ann. École Natl. Agric. Grignon* sér. 3, 3 : 106-127, 13 fig.

1942 - Contribution à la connaissance des tavelures des Rosacées (2ème note). Les tavelures du pêcher, prunier, de l'amandier et du cerisier. *Ibidem* sér. 3, 3 : 128-154, 10 fig.

1942 - A propos d'une forme écidienne sur *Valerianella* en rapport avec *Puccinia cynodontis* Desm. *Ibidem* sér. 3, 3 : 100-105 (A.L. GUYOT et G. VIENNOT-BOURGIN).

1943 - Sur la présence de *Botrytis cinerea* sur les rameaux de poirier aux environs de Paris. *Cah. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* «1942» 1943 : 10-15.

1944 - Les pourritures des pommes et des poires sur le marché français. *Ann. École Natl. Agric. Grignon* «1943» 1944, sér. 3, 4 : 181-215, 10 fig. (G. VIENNOT-BOURGIN et J. BRUN).

1944 - Étude de quelques champignons parasites nouveaux ou peu connus en France. *Ibidem* «1943» 1944, sér. 3, 4 : 216-241, 7 fig.

1944 - Un nouveau parasite des feuilles du cerisier : l'Anthracnose. *Rev. Hort.* 116 : 37, fig. 13.

1945 - La tavelure des pêches (*Cladosporium carpophilum* Thüm.). *Ibidem* 117 : 161-163, fig. 109-110.

1945 - A propos de l'*Ascochyta* de l'Hortensia. *Ibidem* 117 : 281-282.

1945 - Sur la présence du «sour-rot» des agrumes en France. *Rev. Bot. Appl. Agric. Trop.* 25 : 10-15, 2 fig. (G. VIENNOT-BOURGIN et J. BRUN).

1945 - La défense moderne des cultures maraîchères. *Ile-de-France Agric.* n° 20.

1945 - La défense moderne des cultures. Conférence Centre Technique du Machinisme Agric.

1945 - La lutte contre la carie du blé (État actuel de la question). *Agriculture (Paris)* 9 (58) : 9-11.

1946 - Nouvelle contribution à l'étude de la flore cryptogamique du Valais (Suisse). *Rev. Mycol. (Paris)* «1944» 1946, 9 : 37-74, fig.

1946 - A propos d'un Oïdium des feuilles de lilas. *Ibidem* «1944» 1946, 9 : 75-77.

1946 - A propos de deux genres nouveaux : *Centrospora* et *Ansatospora*. *Ibidem* «1945» 1946, 10 : 128-131.

1946 - A propos des pourritures des agrumes. *Fruits Outre-Mer* 1 : 164-171, 6 fig.

1946 - La maladie de l'Anthracnose du cerisier (*Coccomyces hiemalis* Higg.). *Agriculture (Paris)* 10 (71) : 243-245, 3 photos.

1946 - L'utilisation des poudrages en grande culture pour la défense sanitaire des végétaux. *Ile-de-France Agric.* n° 60 (15.6.1946) : 1, 2, 3.

1946 - La désinfection hivernale des vergers. *Agric. Pratique* 110 : 256-259.

1946 - La culture du champignon de couche. VIII. *Dactylium dendroides*, parasite du champignon de couche. *Rev. Mycol. Suppl.* 11 (1) : 4-7, 1 fig.

1946 - Les charbons et les rouilles des îles atlantiques. *Mém. Soc. Biogéogr.* 8 : 437-441, 443-446.

1947 - Les pourritures des fruits à pépins sur les marchés de Paris. *In* : Congrès Naturaliste, Commémoration Quarantenaire Naturalistes Parisiens (Paris, 1944). Paris, Naturalistes parisiens. 1947 : 101-103.

1947 - Bourgeon blanc et bourgeon éclaté. *Ile-de-France Agric.* n° 92 (25.1.1947) : 3.

1947 - La lutte contre l'ergot des céréales panifiables. *Ibidem* n° 117 (26.7.1947) : 3.

1947 - Les tavelures des arbres fruitiers à noyaux. Étude systématique et biologique. *Fruits Outre-Mer* 2 : 170-178, 5 fig.

1947 - La tavelure du pêcher. *In* : 78e Congrès pomologique de France (Perpignan, 1947). Thoissey. 1947 : 99-104, 2 fig.

1947 - Les charbons des feuilles de Dahlia. Biologie, essais de traitement. Compte Rendu Journée étude sur les maladies du dahlia. Société royale d'horticulture et des petits élevages, Gembloux.

1947 - Étude de quelques champignons parasites nouveaux ou peu connus en France (Deuxième note). *Rev. Mycol. (Paris)* 12 : 3-23, 6 fig.

1948 - Étude d'un «*Tuburcinia*» sur «*Polygonatum*». *Bull. Soc. Neuchâtel. Sci. Nat.* 71 : 5-11, 2 fig. (E. MAYOR et G. VIENNOT-BOURGIN).

1948 - Les maladies chancreuses des rameaux des arbres fruitiers. *In* : 79e Congrès pomologique de France (Angers, 1948). Villefranche 1948 : 35-44.

1948 - *Idem. Viticulture, arboriculture* 94 (10) : 302.

1948 - Si Auguste Bella avait pris un autre chemin. *Agriculture (Paris)* 12 (87) : 73-74.

1948 - Les traitements d'hiver, traitements primordiaux. *Ibidem* 12 (87) : 75-83, 5 fig.

1949 - Les micromycètes parasites des végétaux récoltés au cours du troisième colloque franco-suisse (31 mai - 5 juin 1947). *Ann. Sci. Franche-Comté, Bot.* 4 : 3-6 (E. MAYOR et G. VIENNOT-BOURGIN).

1949 - Les champignons parasites des plantes cultivées. Traité de pathologie végétale. 2 vol., Paris, Masson. XV-1851 p., ill.

1949 - Contribution à l'étude des micromycètes du Languedoc et de Provence. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 28 : 3-27, 3 pl. (E. MAYOR et G. VIENNOT-BOURGIN).

1949 - De la présence de paraphyses capitées chez les *Puccinia* et *Uromyces* parasites des *Poa*. *Ibidem* 28 : 129-133, 1 fig.

1949 - Notes mycologiques - Les micromycètes récoltés à l'Alpe d'Huez (Isère) au mois d'août 1947... *Rev. Mycol. (Paris)* 14 : 3-25, 1 fig.

1949 - Les cinq *Puccinia* des Epilobium. *Rev. Gén. Bot.* 56 : 451-463, 1 fig.

1949 - Recherches sur le «papery bark canker» du Pommier de France. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 35 : 577-578 (G. VIENNOT-BOURGIN et M. DELASSUS).

1949 - Nouvelle contribution à l'étude des maladies chancreuses des rameaux de pommier et de poirier. *In* : 80e Congrès pomologique de France (Bourges, 1949). Villefranche. 1949 : 85-91, fig. 8-9.

1949 - *Puccinia circumacta* sp. nov. parasite de *Teucrium polium*. *Bull. Soc. Mycol. France* 65 : 71-75, fig.

1949 - Les agents de pourriture des pommes et des poires au cours de leur conservation. *Phytoma* 11 : 15-19, 6 fig.

1950 - Notes mycologiques - Micromycètes récoltés dans le massif du Pelvoux au mois d'août 1948. Remarques morphologique et biologique. *Bull. Soc. Mycol. France* 66 : 58-70, fig.

1950 - La mort des boutons de pivoine, *Sphaeropsis paeoniae*, champignon parasite nouveau pour la France. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 29 : 20-25, 1 pl.

1950 - Étude critique de quelques *Uromyces* parasites des Légumineuses. *Ibidem* 29 : 158-164, 1 fig.

1950 - Contribution à l'étude des micromycètes de Corse. *Rev. Mycol. (Paris)* 15 : 80-118, 2 pl. (E. MAYOR et G. VIENNOT-BOURGIN).

1950 - Les *Cercospora* parasites des feuilles du manioc. *Rev. Int. Bot. Appl. Agric. Trop.* 30 : 138-146, fig. 7-8.

1950 - Polymorphisme du genre *Cladosporium*. *Ibidem* 30 : 297-306, fig. 17.

1950 - Urédinées d'Afrique (1ère note). *Rev. Mycol. Suppl. Colon.* 15 (2) : 99-105, 2 fig.

1951 - *Oidium begoniae* Puttemans, maladie nouvelle pour la France. *Ann. Inst. Natl. Rech. Agron., Sér. C, Ann. Epiphyt.* 2 : 381-387, 3 fig.

1951 - Étude morphologique de quelques lésions charbonneuses des végétaux. *Ibidem* 2 : 456-478, 4 fig.

1951 - Notes mycologiques III et IV. Micromycètes récoltés dans le massif du Pelvoux au mois d'août 1950. Remarques morphologique et biologique. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 30 : 35-53, 2 fig.

1951 - Contribution à la connaissance des micromycètes de la Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Mycol. France* 67 : 113-139, 2 fig. (E. MAYOR et G. VIENNOT-BOURGIN).

1951 - Étude morphologique et biologique du chancre à Diaporthe du pommier et du poirier en France. *Ann. Inst. Natl. Agron.* sér. 2, 38 : 1-49, 4 fig. (G. VIENNOT-BOURGIN et J.M. MESSIAEN).

1951 - Ustilaginales d'Afrique (première note). *Rev. Mycol. Suppl. Colon.* 16 (2) : 101-106, 1 fig.

1952 - Les 4 *Uromyces* de *Vicia cracca*. *Bull. Soc. Bot. Suisse* 62 : 374-383.

1952 - Les rouilles du *Strophanthus sarmentosus* en Afrique occidentale et équatoriale française. *Rev. Int. Bot. Appl. Agric. Trop.* 32 : 2-14, 2 fig., pl. 1.

1952 - Ustilaginales d'Afrique (deuxième note). Étude critique du genre *Mycosyrinx*. *Ibidem* 32 : 253-264, pl. 8, fig. 14.

1952 - A propos d'une altération des fruits d'ananas en Côte d'Ivoire. *Fruits Outre-Mer* 7 : 21-22.

1952 - Urédinales d'Afrique (deuxième note). Urédinales de la Côte d'Ivoire. (1ère note). *Bull. Soc. Mycol. France* «1951» 1952, 67 : 429-435.

1952 - Une maladie à sclérotes des bulbes et des feuilles d'oignon, nouvelle pour la France. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 38 : 569-570.

1952 - La carie des graines de seigle en France. *Ibidem* 38 : 729-730 (G. VIENNOT-BOURGIN et J. ZIEGLER).

1952 - Sur la présence en France de *Botrytis squamosa*, parasite de l'oignon. *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 31 : 82-98, 2 pl.

1952 - *Uromyces arenariae-grandiflorae* sp. nov. Le charbon foliaire des bromes. *Ibidem* 31 : 185-194, 2 fig.

1953 - Étude morphologique de quelques lésions charbonneuses des végétaux. *In* : Proc. VII Int. Bot. Congr. (Stockholm 1950). Stockholm. Almqvist & Wiskell : 701-702.

1953 - Notes de pathologie végétale (année 1951). *Ann. Inst. Natl. Rech. Agron., Sér. C, Ann. Epiphyt.* «1952» 1953, 3 : 527-533, 5 fig.

1953 - Un parasite nouveau de l'oignon en France : *Botrytis squamosa* Walker et sa forme parfaite *Botryotina squamosa* sp. nov. *Ibidem* 4 : 23-43, 3 fig.

1953 - Urédinales d'Afrique (3ème note). Urédinales de Côte d'Ivoire (2ème note). *In* : A.L. GUYOT, Uredineana 4, Paris, Lechevalier : 125-228, 41 fig.

1953 - Vademecum du botaniste dans la région parisienne... Ed. 2. par H.E. JEANPERT, ed. revue et corrigée par G. VIENNOT-BOURGIN. Paris, P. Klincksieck. xii, 242, 231 p.

1954 - Notes mycologiques (III). *Bull. Soc. Mycol. France* «1953» 1954, 69 : 332-342, 2 fig.

1954 - Notes mycologiques (série IV). *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 33 : 31-45, fig.

1954 - Pathologie végétale. *In* : Ad. DAVY DE VIRVILLE, Histoire de la botanique en France (8ème Congr. Int. Bot.). Paris, SEDES. 1954 : 289-299, ill.

1955 - Etude de quelques Péronosporales de Côte d'Ivoire. *Rev. Mycol. Suppl. Colon.* 19 : 45-54, 2 fig.

1955 - Urédinales d'Afrique (4ème note). Urédinales de la Côte d'Ivoire (3ème note). *Bull. Soc. Mycol. France* «1954» 1955, 70 : 411-419.

1955 - *Puccinia flahaulti* Mayor et Vienn.-Bourg. sp. nov. sur *Geranium macrorhizum*. *Ibidem* «1954» 1955, 70 : 432-435, fig. (E. MAYOR et G. VIENNOT-BOURGIN).

1955 - Objectifs, méthodes et résultats techniques de lutte antiparasitaire. Confédération Internationale des Ingénieurs et Techniciens agricoles. Journées Techn. Agric. Techn. et Techn. Monde Moderne (Paris, 30 sept. - 1 oct. 1955). Paris. 12 p.

1955 - Notes mycologiques (sér. V). Étude de *Puccinia leontodontis* Jacky et de quelques espèces dérivées. *Rev. Mycol. (Paris)* 20 : 21-29, 6 fig.

1955 - Les maladies des peupliers. *Agriculture (Paris)* 18 (174) : 319-322, 2 photos (G. VIENNOT-BOURGIN et B. TARIS).

1956 - *Centrospora acerina* (Hart.) Newhall parasite des cultures de pensée. *Ann. Inst. Natl. Rech. Agron., Sér. C, Ann. Epiphyt.* «1955» 1956, 6 : 433-456, 2 fig.

1956 - Une nouvelle espèce de rouille de l'orge. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 242 : 410-412.

1956 - Mildious, oïdiums, caries, charbons, rouilles des plantes de France. 2 vol. Paris, Lechevalier. 314 p. de texte, atlas de 98 pl. (Encyclopédie mycologique XXVI et XXVII).

1956 - Cours de pathologie végétale. Paris, Centre de Documentation universitaire et SEDES, 123 + XII p.

1956 - Notes mycologiques (VI). Trois espèces parasites, nouvelles pour la France, sur les plantes d'ornement. *Rev. Mycol. (Paris)* 31 : 132-145, 1 pl.

1957 - Gardons notre confiance à l'égard du sulfate de cuivre. *Bull. Techn. Inf. Ingénieurs Serv. Agric.* n° 119, 2 p.

1957 - Le IVe Congrès d'Agrumiculture en Israël (1956). *Fruits* 12 : 299-304, photo.

1957 - Un *Entyloma* des Véroniques. *Bull. Soc. Mycol. France* 73 : 245-250.

1957 - Trois Ustilaginales nouvelles de Guinée française. *Bull. Soc. Bot. France* 104 : 266-275, 3 fig.

1958 - Urédinales d'Afrique (5ème note). Urédinales de Côte d'Ivoire (4ème note). *In* : A.L. GUYOT, Uredineana 5. Paris, Lechevalier : 137-248, 66 fig.

1958 - Contribution à la connaissance des champignons parasites de l'Iran. *Ann. Inst. Natl. Rech. Agron., Sér.C, Ann. Epiphyt.* 9 : 97-210, 14 pl.

1958 - Ustilaginales nouvelles de Guinée française (2ème note). *Rev. Pathol. Vég. Entomol. Agric. France* 37 : 167-178, 4 fig.

1958 - Les maladies cryptogamiques des peupliers (Étude des travaux réalisés en France). Actes 6ème Congrès Int. Peuplier (Paris 1957). Paris 1958 : 343-358 (G. VIENNOT-BOURGIN et B. TARIS).

1959 - Les rouilles des Asphodèles. *Ann. Inst. Natl. Agron.* sér. 2, «1958» 1959, 44 : 61-73, 1 fig.

1959 - André Maublanc (1880-1959). *Mém. Soc. Bot. France* «1958» 1959 : 86-89, 1 portrait.

1959 - Georges Fron (1870-1958). *Ibidem* «1958» 1959 : 82-86, 1 portrait.

1959 - Les déformations provoquées par les Ustilaginales. *In* : Omagiu lui Traian SAVULESCU cu prilejul împlinirii ■ 70 de Ani. Bucuresti, Acad. Rep. Pop. Romine 1959 : 91-97.

1959 - Trois Urédinales subtropicales nouvelles. *Bull. Soc. Bot. France* «1958» 1959, 105 : 500-512, 4 fig.

1959 - Les micromycètes recueillis au cours de la 84ème session extraordinaire (1 au 11 juillet 1957). *Ibidem* «1958» 1959, 105 (84e sess. extraord. Jura) : 62-71.

1959 - Étude des micromycètes parasites récoltés en Guinée. *Ann. Inst. Natl. Agron.* sér. 2, 45 : 1-91, 37 fig.

1959 - Champignons nouveaux de la Guinée. *Bull. Soc. Mycol. France* 75 : 33-37.

1959 - Le *Cercospora* du manguier au Congo. *Fruits* 14 : 267-270, 3 photos (G. VIENNOT-BOURGIN et A. COMELLI).

1960 - Rapport du sol et de la végétation. 1er colloque organisé par la Société botanique de France sous la Direction de G. VIENNOT-BOURGIN (Paris, 13 juin 1959). Paris, Masson, 184 p.

1960 - Colloque de xylologie. Colloque organisé par la Société botanique de France sous la Direction de G. VIENNOT-BOURGIN (Paris, 12 déc. 1959). *Mém. Soc. Bot. France* 1960, 73 p.

1960 - Étude des prairies. 3ème colloque organisé par la Société botanique de France sous la Direction de G. VIENNOT-BOURGIN (Paris, 7 mai 1960). *Fourrages (Rev. Assoc. Franç. Prod. Fourragère)* 4 : 1-134.

1960 - Une nouvelle espèce de rouille de la luzerne. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 46 : 182-185 (G. VIENNOT-BOURGIN et M. COURTILLOT).

1960 - Les infections phytopathogènes d'origine tellurique. *Rev. Gén. Sci. Pures Appl.* 67 : 207-223.

1960 - Contribution à l'étude de la flore du Valais, la flore mycologique de la Vallée du Trient et de la Salanfe. *Bull. Murith. Soc. Valais. Sci. Nat.* 77 : 70-88 (E. MAYOR et G. VIENNOT-BOURGIN).

1961 - Remarques sur les Uromyces parasites des *Medicago*. *Bull. Res. Council Israel, Sect. D, Bot.* 10 : 307-312.

1961 - Notes de pathologie végétale. *Ann. Epiphyt.* 12 : 115-119, 3 fig.

1961 - *Gymnosporangium paraphysatum* sp. nov. sur le *Heyderia macrolepis* au Viet-Nam. *Rev. Mycol. (Paris)* «1960» 1961, 25 : 293-305, 3 fig.

1961 - Champignons, bactéries, virus nuisibles aux arbres fruitiers. Paris, CDU et SEDES. 161 p.

1961 - Champignons, bactéries, virus nuisibles à la vigne. Paris, CDU et SEDES, 88 p., 4 pl.

1962 - Notes de pathologie végétale. *Bull. Soc. Bot. France* «1960» 1962, 107 (86ème sess. extraord.) : 111-118 (G. VIENNOT-BOURGIN et P. BONDOUX).

1963 - Micromycètes parasites nouveaux récoltés à Madagascar. *Bull. Soc. Mycol. France* 79 : 96-108, 1 fig.

1963 - Champignons, bactéries, virus nuisibles à la pomme de terre. Paris, CDU et SEDES, 122 p.

1963 - Réception de M. Viennot-Bourgin. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 49 : 981-987.

1964 - Étude de micromycètes parasites récoltés à Madagascar. *Ann. Inst. Natl. Agron.* n. s. «1963» 1964, 1 : 1-28, 5 fig.

1964 - Étude critique de quelques Ustilaginales. *Ibidem* n.s., «1963» 1964, 1 : 29-48, 3 fig.

1964 - Jacques Duché (1900-1964). *Bull. Soc. Mycol. France* 80 : 153-155.

1964 - La rouille australienne de séneçon. *Rev. Mycol. (Paris)* 29 : 241-258, 2 fig.

1964 - Interactions entre les champignons parasites telluriques et les autres organismes composant la rhizosphère. *Ann. Inst. Pasteur* 107 (suppl. au n° 3) : 21-62.

1964 - Exemple de variabilité morphologique et physiologique chez les champignons. *Bull. École Natl. Sup. Agric. Tunis* n° 4.

1965 - Étude de micromycètes parasites récoltés à Madagascar (3ème note). *Ann. Inst. Natl. Agron.* n. s. «1964» 1965, 2 : 1-31, 10 fig.

1965 - Tscharna Rayss (1890-1965). *Bull. Soc. Mycol. France* 81 : 113-115, portrait.

1965 - Découverte du stade ascosporé de l'*Oidium evonymi japonici*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 261 : 4222-4223.

1965 - Les maladies cryptogamiques du pêcher. Compt. Rend. Congrès Pêcher (Verona (Italie) 20/24 juil. 1965). Verona, Stimmatini : 1-60.

1966 - Contribution à la connaissance des agents pathogènes des organes floraux des fruits et des semences. *Ann. Inst. Natl. Agron.* n. s. «1965» 1966, 3 : 185-249, 4 fig.

1966 - Le renouvellement du stade écidien des Urédinales. *Rev. Roumaine Biol., Sér. Bot.* 11 : 257-261.

1966 - Les pourritures lenticellaires des fruits à pépins. *Israel J. Bot.* 15 : 182-191.

1966 - De quelques Érysiphacées nouvelles ou peu connues. *Bull. Soc. Mycol. France* 82 : 190-206, 2 pl.

1966 - Les champignons parasites des espèces fruitières en zone méditerranéenne. Actes 1er Congr. Union Phytopathol. Médit. (Bari/Naples (Italie) 26 sept. - 1er oct. 1966). Paris, INA.

1966 - Les champignons parasites des arbres fruitiers à pépins. Paris, Ponsot, X + 150 p., 47 pl. (Atlas des maladies des plantes cultivées I (publié sous la direction de G. VIENNOT-BOURGIN) (P. BONDOUX, J. BULIT, H. DARPOUX, J. FLECKINGER, G. VIENNOT-BOURGIN).

1967 - Présentation d'ouvrage : la défense des plantes cultivées. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 53 : 301-303.

1967 - Les champignons parasites des arbres fruitiers à noyau. Paris, Ponsot, 165 p., 46 pl. (Atlas des maladies des plantes cultivées II (publ. sous la direction de G. VIENNOT-BOURGIN)) (P. BONDOUX, J. GRENTE, G. GROISCLAUDE, P. JOLY, G. VIENNOT-BOURGIN).

1968 - Note sur les Erysiphacées. *Bull. Soc. Mycol. France* 84 : 117-118.

1969 - Les bactérioses et les viroses des arbres fruitiers. Paris, La Maison Rustique, 286 p., 36 pl. (Atlas des maladies des plantes cultivées III (publ. sous la direction de G. VIENNOT-BOURGIN)) (J. DUNEZ, A. FAIVRE-AMIOT, B. LANTIN, C. MARENAUD, Mme MICHON, J.C. MORAND, G. MORVAN, C. PUTZ, M. RIDE, D. SPIRE).

1969 - Micromycètes nouveaux récoltés en Iran. *Bull. Soc. Mycol. France* «1968» 1969, 84 : 497-503, 3 fig.

1969 - *Peronospora rumicis* sur *Rumex* et *Emex*. *Friesia* 9 : 258-264, 1 fig.

1969 - Mission phytopathologique en Iran en 1968. *Ann. Phytopathol.* 1 : 5-36, 6 fig.

1969 - Un *Erysiphe* du haricot en serre. *Ibidem* 1 : 473-489, 2 fig.

1969 - Deuxième congrès de l'Union des Phytopathologistes Méditerranéens. (Avignon/Antibes 21-27 sept. 1969). Paris, INRA. 470 p. (*Ann. Phytopathol.* 1 (n° hors série)) (G. VIENNOT-BOURGIN, J. MARROU et J. PONCHET).

1969 - Charbons et caries des céréales. *Agriculture (Paris)* 32 (321) : 157-162, 8 fig.

1969 - Nouvelle contribution à la connaissance des micromycètes parasites en Iran. *Entomol. Phytopathol. Appl. Téhéran* 28 : 3-27 (G. VIENNOT-BOURGIN, G. SCHARIF et F. ESKANDARI).

1969 - Le deuxième congrès de l'Union phytopathologique méditerranéenne. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 55 : 977-980 (G. VIENNOT-BOURGIN, J. MAROU et J. PONCHET).

1970 - L'homme et les champignons. *Phytiatrie-Phytopharm.* «1969» 1970, 18 : 79-86.

1970 - Une nouvelle espèce d'*Uredo* de l'île de la Nouvelle-Amsterdam. *Rev. Mycol. (Paris)* «1969» 1970, 34 : 340-342.

1970 - Réflexions sur les champignons phytopathogènes telluriques. *Al Awania (Rabat)* 35 : 129-135.

1971 - Les champignons parasites de l'Iran (nouvelle contribution). *Ann. Phytopathol.* «1970» 1971, 2 : 689-734 (G. VIENNOT-BOURGIN, N. ALE-AGHA, D. ERSHAD).

1972 - Erysiphacées nouvelles ou peu connues en France. *Ibidem* «1971» 1972, 3 : 337-352, 2 fig.

1972 - Champignons parasites nouvellement observés. *In* : 2ème colloque Société Française de Phytopathologie (14 nov. 1971). Actions enzymatiques des agents phytopathogènes. Travaux des sections. *Ann. Phytopathol.* «1971» 1972, 3 : 531.

1972 - Contribution à la biologie des Erysiphacées. Actas III Congr. Unión Fitopatol. Medit. (Oeiras, 22-28 oct. 1972). Oeiras : 155-163.

1972 - Phytopathologie. *In* : Encyclopedia Universalis 13 : 15-17.

1973 - Un Oïdium perforant sur le *Prunus lauro-cerasus*. *Phytiatrie-Phytopharm.* 22 : 273-279.

1973 - Champignons, bactéries, virus transmis par les semences. Conférence de phytopathologie approfondie. Paris/Grignon, INA, 22 p.

1973 - Champignons telluriques. Conférence de phytopathologie approfondie. Paris/Grignon, INA, 17 p.

1973 - Une nouvelle maladie foliaire du palmier à huile due à *Cylindrocladium macrosporum*. *Oléagineux* 28 : 443-445, 5 fig. (J.L. RENARD et G. VIENNOT-BOURGIN).

1973 - Les champignons parasites des plaies de taille des arbres fruitiers. *In* : Perspectives de lutte biologique contre les champignons parasites des plantes cultivées et des tissus ligneux. Symposium International (Lausanne, 14-15 juin 1973). Lausanne, Station fédérale de recherches agronomiques : 6-17.

1973 - Présentation d'ouvrage : la défense des plantes cultivées. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 59 : 51-53.

1974 - Sores internes d'Urédinales. *Bull. Soc. Mycol. France* 90 : 147-151, 1 fig.

1974 - Rôle de la pathologie végétale dans les pays en voie de développement. *Agron. Trop. (Nogent/Marne)* 29 : 19-27.

1974 - The role of phytopathological research in development countries. *In* : 2nd Int. Congr. Plant pathology (Minneapolis, Sept. 1973). *Phytopathology* 64 : 912-917.

1974 - Conclusion. *In* : 6ème colloque Société française de Phytopathologie (Paris, 28 nov. 1973). I. Terminologie. *Ann. Phytopathol.* 6 : 215.

1975 - Champignons, bactéries, virus transmis par les semences. *In* : R. CHAUSSAT & Y. LE DEUNFF, La germination des semences. Paris, Gauthiers-Villars : 107-120.

1976 - Biologie de l'*Alternaria linicola*. Acta IV Congr. Union Phytopathol. Medit. (Zadar (Yougoslavie), 5-11 oct. 1975). *Poljoprivredna Znanstvena Smotra* 39 (49) : 465-466.

1976 - Le cinquième symposium sur les *Botrytis* organisé à Bordeaux (20-24 sept. 1976). *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 62 : 1243-1250.

1977 - Études sur la spermoflore fongique. *Rev. Mycol. (Paris)* 41 : 33-49, fig.

1977 - Eugène MAYOR (1877-1976). *Bull. Soc. Mycol. France* 93 : (89)-(91), portrait.

1976 - A propos des *Botrytis* - 5e symposium Botrytis (Bordeaux 20-24 sept. 1976).

1978 - Origine et nature de la mycocécidie provoquée par le *Sphacelotheca cruenta*. *Rev. Mycol. (Paris)* 42 : 253-261, 1 pl.

1978 - Les rouilles des *Medicago*. *Ibidem* 42 : 321-339, 2 fig.

1978 - *Uromyces transversalis* (Thüm.) Wint. parasite dangereux des cultures de glaieuls. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 64 : 880-885, 1 carte.

1978 - L'homme et les champignons. *Bull. Soc. Versaillaise Sci. Nat.* 5 : 25-41.

1979 - La rouille transverse, une menace pour nos cultures de glaieul. *Phytoma* 307 : 30-31.

1979 - La pathologie de la conservation frigorifique des fruits à pépins. *Ibidem* 312 : 16-21.

1979 - Recherches sur la maladie du stubborn des agrumes II. Études botaniques sous vergers d'agrumes contaminés par *Spiroplasma citri* au Maroc. *Fruits* 34 : 341-348, 1 tabl. (G. VIENNOT-BOURGIN, G. MOUTOUS, J. BONFILS, C. SAILLARD, J.C. VIGNAULT, A. NHAMI et J.M. BOVE).

1979 - Mise en évidence du *Spiroplasma citri*, l'agent causal de la maladie du «stubborn» des agrumes dans 7 cicadelles du Maroc. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D*, 288 : 335-338, 1 fig., 1 tabl. (J.M. BOVE, G. MOUTOUS, C. SAILLARD, A. FOS, J. BONFILS, J.C. VIGNAULT, A. NHAMI, M. BASSI, K. KABBAGE, B. HAFIDI, C. PUCHES et G. VIENNOT-BOURGIN).

1979 - Présence au Maroc de *Spiroplasma citri*, l'agent causal de la maladie du «stubborn» des agrumes dans des pervenches (*Vinca rosea* L.) implantées en bordures d'orangeraies malades, et contamination probable du chiendent (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) par le *Spiroplasma*. *Ibidem*, *Sér. D*, 288 : 399-402, 1 pl. (J.M. BOVE, A.

NHAMI, C. SAILLARD, J.C. VIGNAULT, C. MOUCHES, M. GARNIER, G. MOUTOUS, A. FOS, J. BONFILS, M. ABASSI, K. KABBAGE, B. HAFIDI et G. VIENNOT-BOURGIN).

1979 - L'œuvre de Jean Dufrénoy en pathologie végétale. *In* : Jean Dufrénoy (1894-1972). Hommages. Paris, Académie d'Agriculture de France : 35-44, 1 pl. coul.

1980 - Roger HEIM (1900-1979). *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* «1979» 1980, 65 : 1476-1481.

1980 - La maladie du bud-blast du rhododendron en France. *Ibidem* 66 : 304-308.

1980 - Mise en culture de spiroplasmes à partir de matériel végétal et d'insectes provenant de pays circum-méditerranéen et du Proche-Orient. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D,* 290 : 775-778 (C. VIGNAULT, J.M. BOVE, C. SAILLARD, R. VOGEL, A. FARRO, L. VENEGAS, W. STEMMER, S. AOKI, R. McCOY, A.S. AL-BELDAWAI, M. LARUE, O. TUZCU, M. OZSAN, A. NAHMI, M. ABASSI, J. BONFILS, G. MOUTOUS, A. FOS, F. POUTIERS et G. VIENNOT-BOURGIN).

1981 - Observation simultanée en France du bud-blast du rhododendron et d'une cicadelle jouant le rôle de vecteur. *Agronomie* 1 (2) : 87-92, 2 fig., 1 pl.

1981 - Un nouveau *Puccinia* à spores «diorchidioïdes». *Cryptogamie, Mycol.* 2 : 55-60, 1 fig.

1981 - A propos du *Coryneum* des Cyprès. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 67 : 266-272.

1981 - History and importance of downy mildews. *In* : D.M. SPENCER, The Downy Mildews. London, Academic Press : 1-15.

1981 - La «brûlure» des boutons floraux du rhododendron. Maladie nouvellement constatée en France. *Bull. Assoc. Parcs Bot. France* 4 : 18.

1981 - A propos du *Coryneum* des cyprès. *Hort. Franç.* n° 127 : 11-15, photos.

1982 - Les mycorhizes (I). Introduction. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 68 : 341-343.

1982 - Les mycorhizes (II). Introduction. *Ibidem* 68 : 1135-1136.

1982 - Étude d'Urédinées. *Cryptogamie, Mycol.* «1981» 1982, 2 : 361-368, 2 fig.

1982 - Trois Oïdiums nouveaux pour la France. *Phytoma* 336 : 34, 4 phot. coul.

1982 - Les Oïdiums du Bégonia. *Hort. Franç.* n° 137 : 14-16.

1983 - Les Oïdiums du Bégonia. *Cryptogamie, Mycol.* 4 : 179-187, fig.

1983 - Perspectives céréalières américaines. Introduction. *Compt. Rend. Séances Acad. Agric. France* 69 : 657-658.

1985 - Origine de la bouillie bordelaise; l'œuvre d'Alexis Millardet. *Ibidem* 71 : 525-531.

1985 - La naissance de la bouillie bordelaise. *In* : Fungicides for Crop Protection / Fongicides et protection des Plantes. Monograph 31 (Proc. Bordeaux Mixture Centenary Meeting / Compt. Rend. Colloque Commémoratif Centenaire de la Bouillie Bordelaise (Bordeaux, 5-7 sept. 1985), vol. 1 : 3-10. (G. VIENNOT-BOURGIN et R. LAFON).

1985 - Étude d'Urédinées du Moyen-Orient. *Cryptogamie, Mycol.* 6 : 29-42, 1 pl. 3 fig. (G. VIENNOT-BOURGIN et N. ALE-AGHA).

1985 - Les agressions parasitaires des fruits stockés. *Bull. Soc. Mycol. France* 101 : 55-59, 1 pl.

1985 - Phytopathologie. *In* : Encyclopedia Universalis, 2e ed., 14 : 650-652.

1986 - Le diagnostic en pathologie végétale. *Compt. Rend. Séance Acad. Agric. France* «1985» 1986, 71 : 957-968.

Cryptogamie, Mycol. 1986, 7 (2) : 113-147

LES ASQUES BITUNIQUÉS DU *LECANIDION ATRATUM* (HEDW.) RABENH. [= *PATELLARIA ATRATA* (HEDW.) FR.] (LECANIDIACEAE) : ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA PAROI AU COURS DU DÉVELOPPEMENT ET A LA DÉHISCENCE

A. BELLEMÈRE*, M.-C. MALHERBE** et J. HAFELLNER***

RÉSUMÉ. — Les asques du *Lecanidion atratum* ont une déhiscence typiquement fissituniquée du même type que celle de l'*Hysterographium fraxini* et des *Abrothallus*, la couche d de la paroi formant l'endotunica. Ce caractère, ainsi que la présence de paraphyses vraies dans l'ascocarpe, doit être pris en compte dans la définition des Lecanidiaceae. Celles-ci sont proches des Hysteriaceae par leurs asques. Au début la déhiscence fissituniquée présente des points communs avec celle des asques du type *Lecanora* et du type *Rhizocarpon*.

ZUSAMMENFASSUNG. — Die Öffnungsweise der Asci von *Lecanidion atratum* ist typisch fissitunicat, etwa wie bei *Hysterographium fraxini* und *Abrothallus*-Arten. Die Schicht d der Ascuswand bildet die Endotunica. Die fissitunicaten Asci sowie das Auftreten von echten Paraphysen in den discocarpen Ascomata müssen bei der Definition der Lecanidiaceae berücksichtigt werden. In Anbetracht des Ascustyps müssen die Lecanidiaceae als den Hysteriaceae ziemlich nahestehend betrachtet werden. In den frühen ontogenetischen Stadien zeigen sich Gemeinsamkeiten zwischen Asci mit fissitunicater Öffnungsweise und lecanoralen Asci vom *Lecanora*- und *Rhizocarpon*-Typ.

SUMMARY. — The dehiscence of the asci in *Lecanidion atratum* is typically fissitunicate as in *Hysterographium fraxini* and *Abrothallus*, where the d layer of the wall forms the endotunica. The fissitunicate asci, as well as the presence of true paraphyses in the ascocarp, have to be considered to define the Lecanidiaceae. Concerning their asci these are closed to the Hysteriaceae. At the beginning, the fissitunicate dehiscence has common features with the dehiscence of the asci of the *Lecanora*-type and the *Rhizocarpon*-type.

MOTS CLÉS : asque, déhiscence, paroi, *Lecanidion*, Lecanidiaceae, Hysteriaceae.

* Laboratoire de Mycologie-Lichénologie, École Normale Supérieure de Saint-Cloud, Grille d'Honneur, Parc de Saint-Cloud, F-92211 Saint-Cloud Cédex, France.

** Assistance technique, ENS Saint-Cloud.

*** Institut für Botanik der Karl-Franzens Universität, Holteigasse 6, A-8010 Graz, Osterreich.

Les Discomycètes à asques bituniqués ont été peu étudiés en microscopie électronique (BELLEMERE, 1971; BEZERRA & KIMBROUGH, 1982; BELLEMERE & al., 1986). Le présent travail concerne l'un des plus typiques d'entre-eux, le *Lecanidion atratum (= Patellaria atrata)* (HAWKSWORTH, 1982; CANNON & al., 1985) type du genre *Lecanidion*, lui-même type de la famille des Lecanidiaceae (ERIKSSON, 1981 à 1984; CANNON & al., 1985). Le caractère bituniqué des asques et leur déhiscence ont été clairement illustrés depuis longtemps en microscopie photonique par BUTLER (1939) puis par CHADEFAUD (1942).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les échantillons étudiés sont les suivants : *Lecanidion atratum* (Hedw.). Rabhn., sur *Tamarix gallica*, France, Camargue, entre le Sambuc et Salins (Bouches-du-Rhône), marais d'eau saumâtre, ca 0m, 10.5.81, leg. Hafellner et Bellemère (no 8350 GZU).

Le matériel a été fixé selon des méthodes classiques en microscopie électronique par transmission (cf. BELLEMERE, 1977 : 234) après une réhydratation d'environ 12 heures. L'inclusion est faite selon SPURR (1969). Les coupes obtenues à l'aide d'un ultramicrotome Reichert OMU2 sont contrastées par la technique de THIÉRY (1967) (= réaction Patag) qui révèle certains polysaccharides. Elles sont observées au moyen d'un microscope JEOL Jem7 sous tension de 80kV.

L'interprétation de l'ultrastructure de la paroi des asques ou des ascospores est celle qui a été utilisée dans des publications antérieures (cf. BELLEMERE & HAFELLNER, 1982, 1983).

RÉSULTATS

1- Le jeune asque à paroi mince (Pl. II).

Les asques naissent d'anses latérales des hyphes ascogènes (Pl. I). Les jeunes asques en cours d'allongement, uninucléés (Pl. II-B), ont une paroi mince (ca 0,2 µm), pratiquement réduite à l'exotunica qui comporte au moins trois couches : une couche externe réactive au test de Thiéry (environ le tiers de l'épaisseur de la paroi), une mince couche médiane d'aspect clair et une couche profonde finement granuleuse. Sous cette dernière, le dépôt de la couche d (endotunica) commence à s'amorcer probablement par le jeu de corps paramuraux, qui, à ce stade, sont nombreux à la périphérie de l'épiplasme apical (Pl. II-A).

A l'apex de l'asque, la paroi est amincie, essentiellement au niveau de sa couche la plus interne; la réactivité de sa partie externe est renforcée.

Dans l'épiplasme, les mitochondries (parfois en haltère) sont nombreuses.

Le reticulum endoplasmique est abondant; près de l'apex ses éléments courts sont densément serrés en une masse qui évoque le «Spitzenkörper» signalé près du sommet des hyphes d'Ascomycètes. De petits amas de glycogène sont dispersés dans l'épiplasme sous-apical ainsi que quelques globules lipidiques.

2 - L'épaississement de la paroi ascale (Pl. III).

Avant la formation de la vésicule ascale, l'épaisseur de la paroi de l'asque a plus que doublé (ca 0,4 à 0,5 μm), essentiellement par l'accroissement de l'exotunica dont la structure n'est pas modifiée. Au début, la couche d (= endotunica), a encore une texture analogue à celle de la couche profonde de l'exotunica (Pl. III-A). Ensuite, elle est mieux individualisée et séparée de cette dernière par une fine strate claire (Pl. III-B); elle reste cependant encore mince.

Dans l'épiplasme, le reticulum endoplasmique est bien développé, le glycogène est plus abondant et les globules lipidiques sont plus gros (Pl. III-B). Vers la base de l'asque des vacuoles se forment (Pl. III-A).

3 - La formation du dôme apical de l'asque (Pl. IV-A).

Alors que les ascospores ne sont pas encore individualisées, le dôme apical se forme par épaississement de la couche d de la paroi autour de la chambre oculaire. Celle-ci de forme trapézoïdale en section frontale, contient un amas dense de vésicules et de reticulum endoplasmique. La partie externe de la couche d, plus transparente aux électrons, constitue une mince lamelle claire sous la couche profonde de l'exotunica (c3). Celle-ci est recouverte par la couche moyenne plus claire (c2) et par la couche externe assez réactive dont les trois strates constitutives (c1 + b + a) ne sont pas toujours distinctes, à ce stade, en raison de leur minceur.

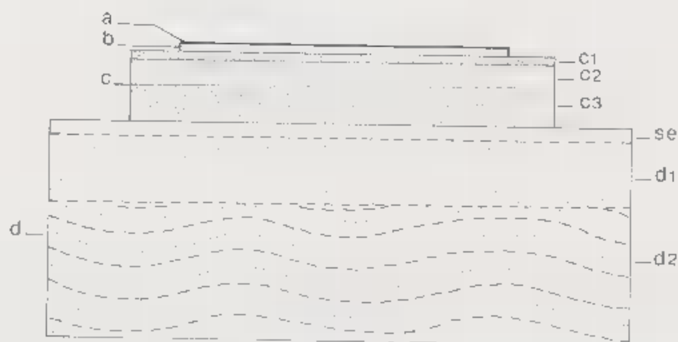


Fig. 1. — *Lecanidion atratum*. Structure de la paroi de l'asque (schéma).
Fig. 1. — *Lecanidion atratum*. Schema des Baus der Ascuswand.
Fig. 1. — *Lecanidion atratum*. Structure of the ascus wall (schema).

4 - La différenciation du dôme apical (Pl. IV-B, V, VI-A).

Peu avant l'individualisation de la vésicule ascale la couche d de la paroi (endotunica), aussi bien sur le flanc de l'asque (Fig. 1) que dans le dôme apical, se subdivise en deux sous-couches séparées par une mince lamelle claire. La sous-couche interne (d2) plus nettement fibrilleuse est finement stratifiée. Sur les coupes un peu obliques, elle présente une structure en «accordéon» (cf. BELLEMERE & HAFELLNER, 1982). La sous-couche externe (d1), qui reste granuleuse, est souvent un peu plus réactive dans sa partie profonde; au contact de l'exotunica, elle forme au contraire une fine strate claire. Celle-ci contraste avec l'aspect sombre de la sous-couche c3 de l'exotunica, qui est aussi bordée extérieurement par la lamelle claire correspondant à la sous-couche c2. La partie externe de l'exotunica (c1 + b + a), qui reste mince, est réactive surtout à l'extrême sommet de l'asque (Pl. V-B).

La chambre oculaire forme des replis longitudinaux qui se révèlent sur les coupes non axiales (Pl. V-A). Ce sont probablement eux qui dans les observations en microscopie photonique donnent les figures de «nasse apicale» (CHADEFAUD, 1942).

Au début de la différenciation des ascospores l'épiplasme s'enrichit en glycogène. Celui-ci est assez abondant chez les jeunes spores (Pl. VI-A).

5 - L'amincissement du dôme apical (Pl. VI).

Au cours de la maturation des ascospores, leur périspore, transparente aux électrons, devient importante (Pl. VI-A); les cloisons transversales qu'elles acquièrent ont une structure classique.

Le dôme apical de l'asque devient moins important par amincissement de la couche d dont la stratification est plus apparente. La chambre oculaire, moins profonde, s'élargit.

Sur le flanc de l'asque, la paroi est également amincie en raison de la moindre épaisseur de la couche d.

Le glycogène reste abondant dans l'épiplasme mais disparaît pratiquement des ascospores. Dans celles-ci, les globules lipidiques, riches en fins granules Patag+, sont plus abondants. Ils grossissent et finissent par confluer en occupant la plus grande partie des cellules (Pl. VI-B).

6 - L'asque proche de la déhiscence (Pl. VII).

A ce stade la stratification et la réactivité de la couche d de la paroi de l'asque n'est plus aussi apparente, en particulier dans le dôme apical. La distinction entre les sous-couches d1 et d2 devient alors plus délicate car d2 est moins nettement fibrilleuse. La réactivité de l'exotunica est également plus faible. C'est l'indice d'une modification de la texture de la paroi. Il arrive même que, çà et là, quelques plages nettement délimitées de la paroi, ne fixent plus le contrastant et restent transparentes bien que leur fixation soit normale.

7 - Le début de la déhiscence de l'asque (Pl. VIII, IX).

L'exotunica se rompt à l'apex de l'asque. L'endotunica du dôme apical fait alors saillie à l'extérieur et s'allonge sans encore se rompre au sommet (Pl. IX). Sa réactivité est affaiblie; on peut cependant y distinguer encore les deux sous-couches d1 et d2 (Pl. VIII-B).

L'endotunica est au contraire plus réactive, particulièrement au niveau de la partie externe de la sous-couche c3 qui constitue une fine strate fortement Patag+ (Pl. VIII-B).

8 - L'asque en cours de déhiscence (Pl. X).

Dans l'endotunica évaginée les deux sous-couches d1 et d2 restent distinctes (Pl. X-C). L'exotunica s'épaissit un peu, surtout au niveau de c3, fortement Patag+ et très granuleuse.

Au niveau de la rupture de l'exotunica un début de fissuration se fait entre celle-ci et l'endotunica sur l'emplacement de la fine lamelle claire qui les unissait. Un sillon se marque ainsi autour de la base de l'endotunica évaginée. Au-dessous de celui-ci, il n'y a pas de discontinuité apparente entre l'exotunica et l'endotunica. C'est donc seulement la partie apicale de l'endotunica, occupant le sommet du dôme apical, qui s'est allongée et évaginée, sans qu'il y ait de glissement important de l'endotunica sur l'exotunica. Il se produit probablement des remaniements à l'échelle moléculaire dans l'endotunica qui permettent une sorte d'écoulement des substances pariétales constitutives.

9 - L'asque en fin de déhiscence (Pl. XI) (Fig. 2).

La fissuration entre l'exotunica et l'endotunica s'est étendue vers le bas, le long de la paroi latérale de l'asque (Pl. XI-B). L'exotunica s'est séparée de l'endotunica et, fortement gonflée, glisse vers la base de l'asque et se replie sur elle-même en ondulations caractéristiques. Le caractère fissituniqué de la déhiscence est désormais réalisé. L'endotunica subit un important gonflement: la distinction entre les sous-couches d1 et d2 y devient délicate. L'exotunica reste structurée et très réactive.

DISCUSSION

A – LA DÉHISCENCE DES ASQUES.

La déhiscence des asques du *Lecanidion atratum* est typiquement fissituniquée. Il y a évagination de la couche d de la paroi (endotunica) à l'extérieur de l'exotunica préalablement rompue. C'est au niveau d'une mince strate claire assurant le contact entre les couches c et d que s'effectue la rupture. Celle-ci a donc lieu sur le même emplacement que chez l'*Hysterographium fraxini* (BELLEMERE & HAFELLNER, 1982) et les *Abrothallus* (BELLEMERE & al., 1986).

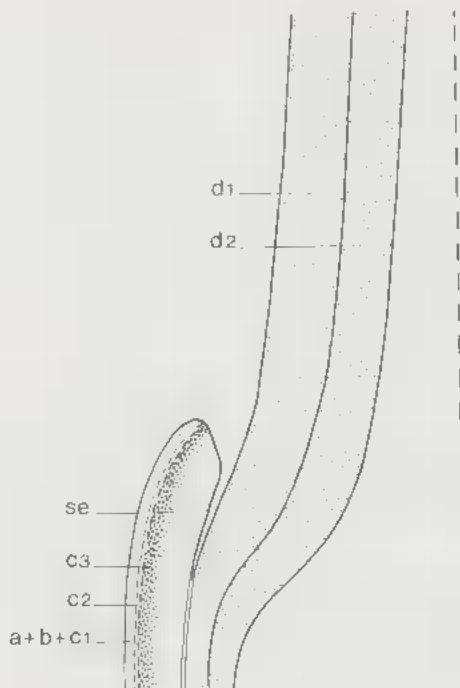


Fig. 2. – *Lecanidion atratum*. Début de déhiscence fissituniquée. L'endotunica (d1+d2) après s'être évaginée vers le haut commence à se séparer de l'exotunica (a+b+c1+c2+c3) en direction basipète, au niveau de la mince lamelle (se).

Fig. 2. – *Lecanidion atratum*. Beginn der fissitunicaten Öffnung des Ascus. Die Endotunica (d1+d2) fängt an, nachdem sie sich hochgestülpt hat, sich von der Exotunica (a+b+c1+c2+c3) auf dem Niveau der dünnen Lamelle (se) gegen die Basis hin abzulösen.

Fig. 2. – *Lecanidion atratum*. Beginning of the fissitunicate dehiscence. After its evagination towards the top, the endotunica (d1+d2) begins to separate from the exotunica (a+b+c1+c2+c3) in a basipetal direction at the place of thin sheath (se).

Au moment de la déhiscence se produit un important gonflement de la couche d et, dans une moindre mesure, des différentes sous-couches de la couche c. La couche d garde un aspect massif après la déhiscence en conservant une certaine rigidité due probablement à la partie la plus externe de d1.

L'exotunica (partie non évaginée de l'asque) n'est pas seulement formée par la mince partie externe de la paroi de l'asque plus réactive au test de Thiéry. Elle comporte aussi les sous-couches sous-jacentes c2 et c3. Comme il n'est pas sûr qu'en microscopie photonique celles-ci soient effectivement comprises dans l'exoascus réfringent des asques immatures, il convient d'être prudent dans l'emploi des termes exoascus et endoascus en microscopie électronique (cf. BELLEMERE & HAFELLNER, 1982).

Lors de la déhiscence, la fissuration complète entre l'exotunica et l'endotunica ne se produit pas d'emblée après la rupture de l'exotunica (Fig. 3). Elle reste d'abord limitée à la partie supérieure de l'asque où se forme seulement un sillon annulaire entre ces deux éléments. Ce n'est qu'un peu plus tard, vers la fin de la déhiscence, que cette fissuration s'étend vers la base de l'asque puisque s'effectue la complète séparation de l'endo- et de l'exotunica et que la déhiscence devient véritablement fissituniquée. A son début, la déhiscence ne diffère donc pas fondamentalement de celle des asques du type *Lecanora*. Il y a dans les deux cas une extrusion de la partie supérieure de la paroi interne de l'asque

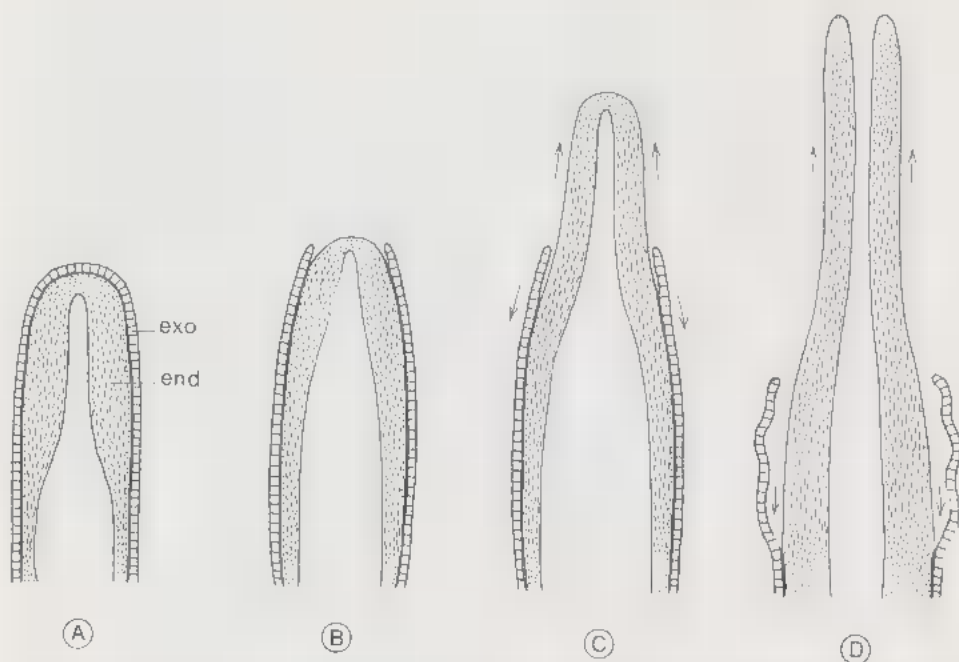


Fig. 3. — *Lecanidion atratum.* Étapes successives de la déhiscence fissituniquée. — A : Sommet d'asque avant la déhiscence. — B : Rupture de l'exotunica au sommet de l'asque. — C : Extension vers le haut de la partie supérieure de l'endotunica qui, vers le bas, se sépare de l'exotunica de façon basipète avec la formation d'un sillon annulaire. — D : La fissuration entre l'endotunica et l'exotunica progresse de façon basipète; l'exotunica s'affaisse vers le bas.

Fig. 3. — *Lecanidion atratum.* Aufeinanderfolgende Stadien der fissitunicaten Öffnungsweise. — A : Ascusspitze vor der Öffnung. — B : Aufreissen der Exotunica an der Ascusspitze. — C : Ausdehnung des oberen Teils der Endotunica in Richtung Hymeniumoberfläche; die Endotunica löst sich nach unten hin in Form eines ringförmigen Schlitzes von der Exotunica. — D : Der Spalt zwischen Exo- und Endotunica verlängert sich gegen die Basis hin. Die Exotunica sinkt gegen die Ascusbasis ab.

Fig. 3. — *Lecanidion atratum.* Successive stages of the fissitunicate dehiscence. — A : Apex of an ascus before the dehiscence. — B : The exotunica is broken at the top of the ascus. — C : Extension towards the top of the upper part of the endotunica; at the base, the splitting of the exotunica in a basipetal way results in an annular furrow. — D : The splitting between the endotunica and the exotunica advances in a basipetal manner; the exotunica collapses downwards.

hors de la paroi externe rompue. Mais chez les *Lecanora* il n'y a pas de fissuration, même minime, entre l'exo- et l'endotunica et l'importance de l'extrusion de l'endotunica reste limitée. L'élongation considérable du dôme apical chez le *Lecanidion* résulte de remaniements importants de l'endotunica évaginée, vraisemblablement par glissements de proche en proche de feuillets pariétaux les

uns sur les autres en direction de l'évagination (comme un empilement de feuilles de papier qui perd son équilibre). Ce processus [redacted] développe probablement depuis l'apex de l'asque et gagne en direction de [redacted] base avec, comme conséquence, la séparation de l'exo- et de l'endotunica restées longtemps solidaires. Chez les *Lecanora* au contraire les remaniements sont plus modestes et n'affectent pratiquement que la seule partie évaginée de l'endotunica. Dans ces conditions on peut envisager que le plan structural de l'apex des asques des Lécanorales et des asques fissituniqués du type *Lecanidion* sont similaires. Par suite l'interprétation de l'apex des asques bituniqués de type *Lecanidion* jusqu'ici incertaine (cf. BELLEMERE, 1977 : 256) peut être faite sans ambiguité, et on peut envisager que les asques des Lécanorales typiques et ceux des Bituniqués fissituniqués se rattachent à un même type d'origine. Avec HONEGGER (1978, 1980) on peut considérer celui-ci comme proche de celui des types *Rhizocarpon* ou *Catolechia* (BELLEMERE & HAFELLNER, 1983). A partir de ce type, l'évolution a pu se faire, d'une part, vers la réduction de l'extrusion de l'endotunica au cours de la déhiscence avec perte du caractère fissituniqué (Lécanorales typiques) et, d'autre part, au contraire, vers le développement de l'extrusion et du caractère fissituniqué qui a conduit aux fissituniqués typiques. S'il en est bien ainsi des Rhizocarpaceae (HAFELLNER, 1984) mériteraient d'être placées sur le même plan que les Lécanorales et que les Bituniqués-Fissituniqués en constituant un ordre distinct (Rhizocarpales).

B – LES PROBLÈMES SYSTÉMATIQUES POSÉS PAR LE GENRE *LECANIDION*.

1 - Le problème de la famille des Lecanidiaceae.

Puisque le genre *Lecanidion* est le genre type de la famille des Lecanidiaceae Eriks. (ERIKSSON, 1982) on ne doit inclure dans les Patellariaceae que des genres dont les asques ont une déhiscence fissituniquée typique. Le genre *Rhizocarpon* doit donc être exclu de cette famille, contrairement à ce qu'ont fait BARR (1979) et ERIKSSON (1981 : 79).

D'autre part, on ne peut placer dans les Lecanidiaceae que des genres dont les fructifications à asques se développent comme celle du *Lecanidion atratum*. Or, celles-ci sont des apothécies qui, à maturité, contiennent une large part de paraphyses vraies même si leurs jeunes stades n'ont que des filaments paraphysoïdes (BELLEMERE, 1967). La présence de paraphyses vraies dans les apothécies du genre type de la famille n'a généralement pas été prise en considération par les auteurs pour définir les Lecanidiaceae (LUTTRELL, 1973; KAMAT & ANAHOSUR, 1975) et des genres où des paraphyses vraies n'ont pas été mentionnées y ont été placés (cf. ERIKSSON, 1981 : 79; BEZERRA & KIMBROUGH, 1982). Les Discomycètes qui doivent être placés dans les Patellariaceae parce qu'ils ont à la fois des asques bituniqués-fissituniqués et des apothécies à paraphyses vraies (au moins à un stade avancé) sont peu nombreux. En dehors des *Lecanidion* il s'agit essentiellement du *Tryblidiella clavispora* (MU-

THAPPA, 1970), du *Rhytidhysterium rufulum* (BELLEMERE, 1971) (où la présence de paraphyses vraies est cependant contestée, cf. BEZERRA & KIMBROUGH, 1982), et du genre *Schrakia* (HAFELLNER, 1979).

Le genre *Abrothallus* ne peut être rangé dans les Lecanidiaceae. En effet, ses asques diffèrent de ceux des *Lecanidion* par la structure de l'exotunica et de l'endotunica, par la pigmentation des ascospores et la structure fine de leur périspore (BELLEMERE & al., 1986). De plus il est très probablement dépourvu de paraphyses vraies. Enfin, la présence d'anamorphes et le mode de vie parasymbiotique le distinguent aussi des Lecanidiaceae.

2 - La place des Lecanidiaceae parmi les Ascomycètes.

La déhiscence fissituniquée des asques du *Lecanidion atratum* est du même type que celle des asques de l'*Hysterographium fraxini* (BELLEMERE & HAFELLNER, 1982). Il y a en outre une grande analogie de structure de la paroi des asques de ces deux espèces au cours de leur développement. Eu égard à leurs asques, les Lecanidiaceae ressemblent donc aux Hysteriaceae. Certains auteurs ont d'ailleurs rapproché ces deux familles (LUTTRELL, 1973; von ARX & MULLER, 1975; BARR, 1979).

Toutefois les Lecanidiaceae se séparent nettement des Hysteriaceae par la structure des ascocarpes (développement de type *Pleospora* chez l'*Hysterographium fraxini*) (LUTTRELL, 1973). Il y a aussi des différences de détail de l'ultrastructure des asques (couronne de fibrilles dans l'endotunica de l'apex, sous-couche c1 plus mince et moins bien individualisée de la partie externe de l'exotunica). Ces deux familles ont été placées dans un même ordre (Hystériales) par LUTTRELL (1973). Mais celui-ci a aussi envisagé de les ranger dans deux ordres différents (d° : 194). ERIKSSON (1982 a-b, 1983, 1984) les a classé respectivement dans les Lecanidiales (= Patellariales) et dans les Hystériales. En raison de la parenté structurale des asques ceci est peut-être excessif.

L'ultrastructure des asques des Arthroraphidaceae et des Phillipsiellaceae, placées près des Lecanidiaceae dans les Lécanidiales (= Patellariales) par ERIKSSON (1983, 1984) n'est malheureusement pas connue.

Les relations des Lecanidiaceae avec les autres Ascomycètes à asques bituniqués-fissituniqués restent difficiles à envisager de façon satisfaisante faute de données suffisantes.

L'ultrastructure des asques des Loculoascomycètes n'a été étudiée que chez un petit nombre d'espèces (références in PARGUEY-LEDUC & JANEX-FAVRE, 1982); de plus les figures correspondent souvent à des coupes obliques car les structures «en accordéon» (REYNOLDS, 1971; BELLEMERE & HAFELLNER, 1983) y sont fréquentes. La déhiscence n'a pas été observée au niveau ultrastructural. Pour y voir plus clair, il faudrait multiplier les études cytologiques fines des asques bituniqués.

REMERCIEMENTS :

Nous remercions bien vivement pour leur assistance technique M. Letalnet et E. Vast pour le tirage des photographies, T. Casses pour les dessins et M. André pour la frappe du manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

ARX J.A. von and MULLER E., 1975 – A re-evaluation of the bitunicate Ascomycetes with keys to families and genera. *Stud. Mycol.* 9 : 159 p.

BARR M.E., 1979 – A classification of Loculoascomycetes. *Mycologia* 71 : 935-957.

BELLEMERE A., 1967 – Contribution à l'étude du développement de l'apothécie chez les Discomycètes Inoperculés. *Bull. Soc. Mycol. France* 83 : 395-640 et 753-931.

BELLEMERE A., 1971 – Les asques et les apothécies des Discomycètes bituniqués. *Ann. Sci. Nat., Bot.*, sér. 12, 12 : 429-464.

BELLEMERE A., 1977 – L'appareil apical de l'asque chez quelques Discomycètes : étude ultrastructurale comparative. *Rev. Mycol. (Paris)* 41 : 233-264.

BELLEMERE A. et HAFELLNER J., 1982 – Étude ultrastructurale des asques bituniqués de l'*Hysterographium fraxini* (Pers. ex Fr.) de Not. (Ascomycètes, Hystériales) : Développement de la paroi et déhiscence. *Cryptogamie, Mycol.* 3 : 261-295.

BELLEMERE A. et HAFELLNER J., 1983 – L'appareil apical des asques et la paroi des ascospores du *Catolechia wahlenbergii* (Ach.) Flotow ex Koerber et de l'*Epilichen scabrosus* (Ach.) Clem. ex Haf. (Lichens, Lécanorales) : étude ultrastructurale. *Cryptogamie, Bryol. Lichénol.* 4 : 1-36.

BELLEMERE A., MALHERBE M.C., CHACUN H. et HAFELLNER J., 1986 – Étude ultrastructurale des asques et des ascospores chez les espèces lichénicoles non lichénisées *Abrothallus bertianus* de Not. et *A. parmeliarum* (Sommerf.) Nyl. *Cryptogamie, Mycol.* 7 : 47-85.

BEZERRA J.L. and KIMBROUGH J.W., 1982 – Culture and cytological development of *Rhytidhysterium rufulum* on *Citrus*. *Canad. J. Bot.* 60 : 568-579.

BUTLER E.T., 1939 – Ascus dehiscence in *Lecanidion atratum* and its significance. *Mycologia* 31 : 612-623.

CANNON P.F., HAWKSWORTH D.L. and SHERWOOD-PIKE M.A., 1985 – The British Ascomytina. An annotated checklist. Slough SL 2 3BN, U.K., Commonwealth Agricultural Bureaux, 302 p.

CHADEFAUD M., 1942 – Étude d'asques. II. Structure et anatomie comparée de l'appareil apical des asques chez divers Discomycètes et Pyrénomycètes. *Rev. Mycol. (Paris)* 7 : 57-58.

ERIKSSON O., 1981 – The families of bitunicate Ascomycetes. *Opera Bot.* 60 : 1-220.

ERIKSSON O., 1982a – Outline of the Ascomycetes 1982. *Mycotaxon* 15 : 203-248.

ERIKSSON O., 1982b – Revision of «Outline of the Ascomycetes 1982». *Systema Ascomycetum* 1. Umea, O. Eriksson : 1-16.

ERIKSSON O., 1983 – Outline of the Ascomycetes 1983. *Systema Ascomycetum* 2. Umea, O. Eriksson : 1-37.

ERIKSSON O., 1984 – Outline of the Ascomycetes 1984. *Systema Ascomycetum* 3. Umea, O. Eriksson : 1-72.

HAFELLNER J., 1979 — *Karschia.* Revision einer Sammelgattung an der Grenze von lichenisierten und nichtlichenisierten Ascomyceten. *Beih. Nova Hedwigia* 62 : 1-248.

HAFELLNER J., 1984 — Studien in Richtung einer natürlichen Gliederung der Sammelfamilien Lecanoraceae und Lecidaceae. *Beih. Nova Hedwigia* 79, Festschrift J. Poelt : 241-371.

HAWKSWORTH D.L., 1982 — Changes to the British checklist arising from the abolition of later fungal starting points. *Lichenologist* 14 : 131-137.

HONEGGER R., 1978 — Ascocarp Ontogenie, Ascus Struktur und Funktion bei Vertretern der Gattung *Rhizocarpon. Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 91 : 579-594.

HONEGGER R., 1980 — The ascus apex in lichenized fungi. II. The *Rhizocarpon* type. *Lichenologist* 12 : 157-172.

KAMAT M.N. and ANAHOSUR K.H., 1975 — Morphology of ascocarp and nature of interascal filaments in the Patellariaceae (Ascoloculares). *Nova Hedwigia* «1973» 1975, 24 : 467-480.

LUTTRELL E.S., 1973 — Loculoascomycetes. *In* : AINSWORTH G.C., SPARROW F.R. & SUSSMAN A.S., *The Fungi*, IV A. New-York, London, Acad. Press : 135-219.

MUTHAPPA B.N., 1970 — Morphology of *Tryblidiella clavispora. Mycologia* 62 : 98-106.

PARGUEY-LEDUC A. et JANEX-FAVRE M.C., 1982 — La paroi des asques chez les Pyrénomycètes : étude ultrastructurale. I. Les asques bituniqués typiques. *Canad. J. Bot.* 60 : 1222-1230.

REYNOLDS D.R., 1971 — Wall structure of a bitunicate ascus. *Planta* 98 : 244-257.

SPURR A.R., 1969 — A low viscosity embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26 : 41-43.

THIÉRY J.P., 1967 — Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscop.* 6 : 987-1018.

ABRÉVIATIONS DES LÉGENDES DES PLANCHES ET DES FIGURES

a : couche a
aa : apex de l'asque
an : anse latérale
ar : amas de reticulum endoplasmique
as : ascospore
b : couche b
c : couche c
c1 : sous-couche c1
c2 : sous-couche c2
c3 : sous-couche c3
co : chambre oculaire
d : couche d
d1 : sous-couche d1
d2 : sous-couche d2
end : endotunica
ep : épiplasme
exo : exotunica
g : glycogène
ha : hyphe ascogène
l : lipides
m : mitochondrie
n : noyau
p : périspore
r : reticulum endoplasmique
se : strate externe claire de la couche d
v : vacuole
z : ensemble des couches a+b+c1

(Toutes les planches concernent le *Lecanidion atratum*)

IN DEN ABBILDUNGEN VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

a : Schicht a der Ascuswand
aa : Ascusspitze
an : Haken
ar : gehäuftes endoplasmatisches Reticulum
as : Ascospore
b : Ascuswandschicht b
c : Ascuswandschicht c
c1 : Unterschicht c1 der Ascuswandschicht c
c2 : Unterschicht c2 der Ascuswandschicht c
c3 : Unterschicht c3 der Ascuswandschicht c
co : «chambre oculaire»
d : Ascuswandschicht d
d1 : Unterschicht d1 der Ascuswandschicht d
d2 : Unterschicht d2 der Ascuswandschicht d
end : Endotunica
ep : Epiplasma
exo : Exotunica
g : Glycogen
ha : ascogene Hyphe
l : Lipidglobuli
m : Mitochondrium
n : Kern
p : Perispor
r : endoplasmatisches Reticulum
se : äusserer, heller Teil der Wandschicht d
v : Vakuole
z : Wandschichtgruppe a + b + c1

(Alle Tafeln beziehen sich auf *Lecanidion atratum*)

ABBREVIATIONS OF LEGENDS IN PLATES AND FIGURES

a : ■ layer
aa : apex of the ascus
an : crozier
ar : piled up endoplasmic reticulum
as : ascospore
b : b layer
c : c layer
c1 : c1 underlayer
c2 : c2 underlayer
c3 : c3 underlayer
co : ocular chamber
d : d layer
d1 : d1 underlayer
d2 : d2 underlayer
end : endotunica
ep : epiplasm
exo : exotunica
g : glycogen
ha : ascogenous hyphae
l : lipids
m : mitochondria
n : nucleus
p : perispore
r : endoplasmic reticulum
se : clear external sheath of the d layer
v : vacuole
z : ■ + b + c1 united layers

(All the plates concern *Lecanidion atratum*)

Planche I. — Hyphe ascogène avec anse latérale (Patag).

Tafel I. — Ascogene Hyphe mit Haken (Patag).

Plate I. — Ascogenous hypha with a crozier (Patag).


ha
an
n
n
2 µm

Planche II. — Jeune asque à paroi encore peu épaisse (Patag). — A l'apex la paroi est amincie; sa partie externe est plus réactive; le reticulum endoplasmique est en amas dense. Noter la présence de plusieurs corps paramuraux à la périphérie de l'épiplasme (flèches).

Tafel II. — Junger Ascus mit noch dünner Wand (Patag). — An der Ascusspitze ist die Wand dünner, ihr äusserer Teil reagiert stärker; das ER ist nicht gehäuft. Man beachte das Vorhandensein von mehreren mauerähnlichen Körpern im peripheren Epiplasma (Pfeile).

Plate II. — Young ascus with the wall not yet very thick (Patag). — The wall, at the apex, is still thin; its external part is more reactive; the endoplasmic reticulum is densely piled up. Note the presence of several paramural bodies in the periphery of the epiplasm (arrows).

A

ar

r

gl

m

l

1 µm

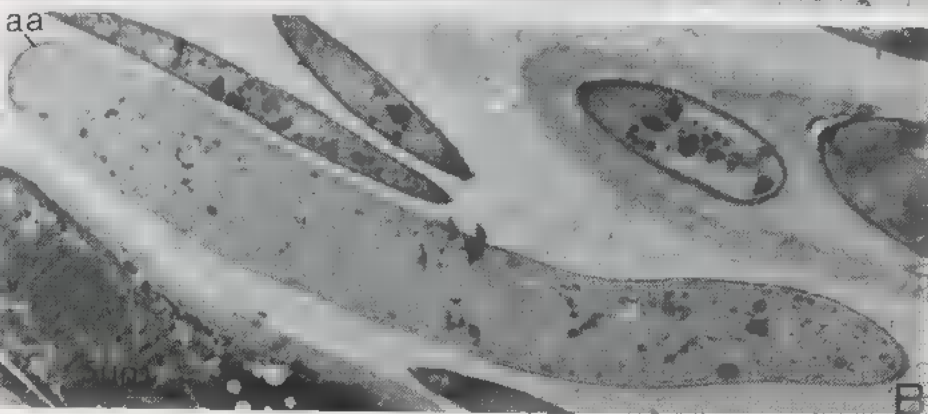


Planche III. – Asque avant la formation de la vésicule ascale (Patag). – A : Partie basilaire d'un asque. Le reticulum endoplasmique et les vacuoles sont abondants. Dans la paroi, on ne distingue pas la couche d de la sous-couche c3; plusieurs corps paramuraux sont distincts à la périphérie de l'épiplasme (flèches). – B : Partie moyenne d'un asque. Dans la paroi la couche d est distincte de la sous-couche c3 dont elle est séparée par une lamelle claire. Reticulum endoplasmique et glycogène sont abondants.

Tafel III. – Ascus vor der Bildung des Ascusvesikels (Patag). – A : Unterer Teil eines Ascus. ER und Vakuolen sind reichlich vorhanden. Im Wandbau kann man die Schicht d von der Unterschicht c3 noch nicht unterscheiden. Mehrere mauerähnliche Körper sind im peripheren Epiplasma deutlich zu erkennen (Pfeile). – B : Mittlerer Teil eines Ascus. Im Wandbau ist die Schicht d von der Unterschicht c3 durch eine helle Lamelle getrennt. ER und Glykogen sind reichlich vorhanden.

Plate III. – Ascus before the formation of the ascus vesicle (Patag). – A : Basilar part of an ascus. The endoplasmic reticulum and the vacuoles are abundant. In the wall the d layer is not distinct of the c3 underlayer; several paramural bodies are distinct in the periphery of the epiplasm (arrows). – B : Median part of an ascus. In the wall the d layer and the c3 underlayer are distinct and separated by a clear sheath. Endoplasmic reticulum and glycogen are abundant.

A
l
v
z
c2
c3
g
1µm

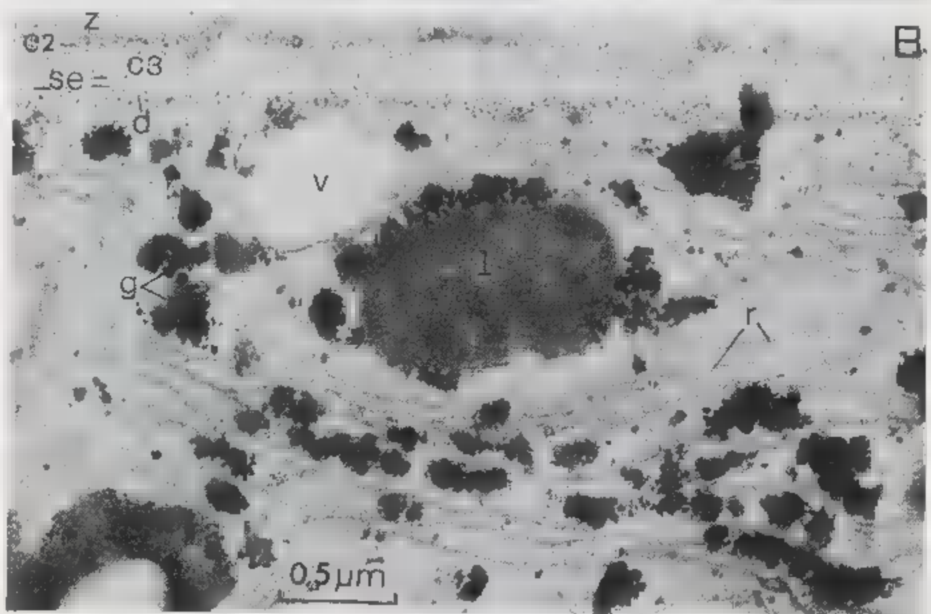
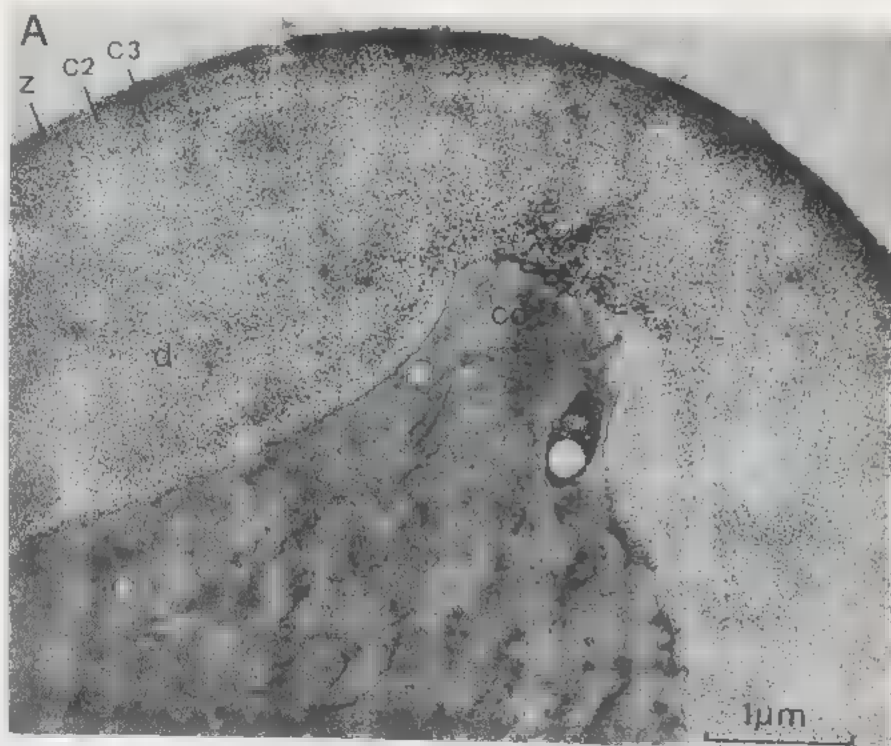


Planche IV. — Apex d'un asque avant la formation de la vésicule ascale (Patag). — A : Coupe subaxiale. La couche d (endotunica) constitue le dôme apical, elle est faiblement différenciée au-dessus de la chambre oculaire dans laquelle le reticulum endoplasmique forme un amas dense. — B : Coupe oblique à un stade un peu plus âgé que A. La couche d s'est subdivisée en deux sous-couches d1 et d2. En raison de l'obliquité de la coupe une structure en «accordéon» apparaît dans d2. L'épiplasme est riche en glycogène.

Tafel IV. — Spitze eines Ascus vor der Bildung des Ascusvesikels (Patag). — A : Fast axialer Schnitt. Die Schicht d (Endotunica) bildet den apikalen Dom (Tholus). Sie ist ober der «chambre oculaire» nur wenig differenziert. In der «chambre oculaire» liegt das ER dicht gehäuft. — B : Schiefer Schnitt in einem etwas späteren Entwicklungsstadium als A. Die Wandschicht d hat sich in die 2 Unterschichten d1 und d2 differenziert. Wegen der schiefen Schnittführung erscheint in der Unterschicht d2 die «Ziehharmonika»-Struktur. Das Epiplasma ist reich an Glykogen.

Plate IV. — Apex of an ascus before the formation of the ascus vesicle (Patag). — A : Subaxial section. The d layer (endotunica) which forms the apical dome is slightly differentiated above the ocular chamber in which endoplasmic reticulum forms a dense mass. — B : Stadium not so old as A. Oblique section. In the d layer two underlayers d1 and d2 are now distinct. Due to the oblique section, the d2 underlayer has a banded-pattern appearance (= «accordeon»-like structure). Abundance of glycogen is seen in the epiplasm.


A
z
C2
C3
co
d
1µm

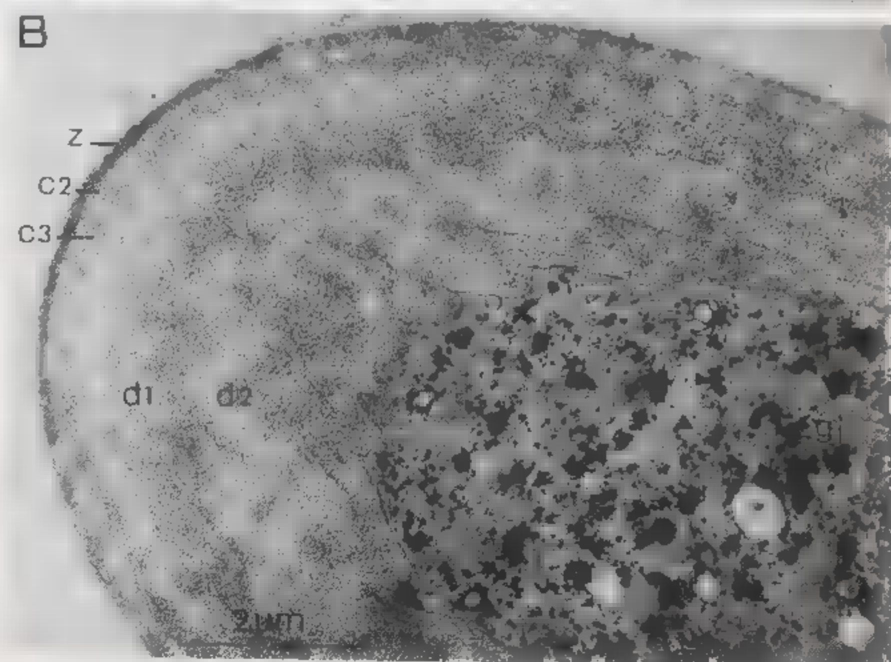
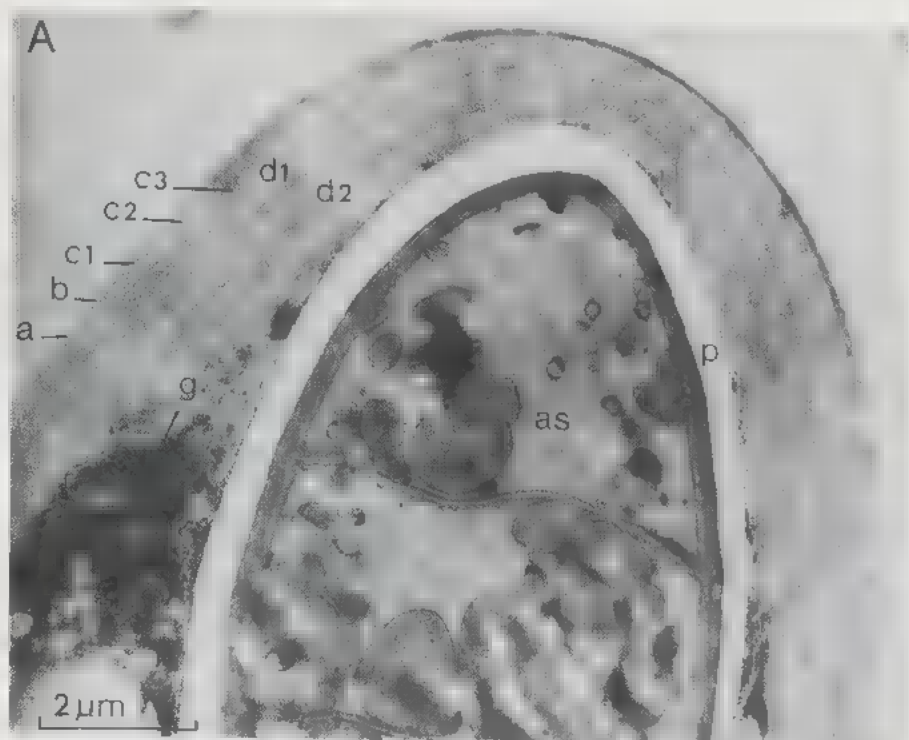

B
z
C2
C3
d1
d2
gl
2µm

Planche V. — Apex d'un asque à dôme apical différencié (Patag). — A : Stade antérieur à l'individualisation des ascospores. La couche d (endotunica) est subdivisée en deux sous-couches d1 et d2. Cette coupe paraxiale montre l'existence de replis longitudinaux le long de la chambre oculaire. — B : Stade à ascospores individualisées (stade primaire). La subdivision de d en deux sous-couches d1 et d2, persiste. Dans l'épiplasme et le sporoplasme le glycogène est abondant.

Tafel V. — Spitze eines Ascus mit ausdifferenzierter, apikaler Kuppel (Patag). — A : Stadium, bevor sich die Ascosporen individualisieren. Die Wandschicht d (Endotunica) ist in 2 Unterschichten d1 und d2 unterteilt. Dieser fast axiale Schnitt zeigt, dass in der «chambre oculaire» longitudinale Falten vorhanden sind. — B : Stadium mit sehr jungen Ascosporen. Die Unterteilung der Wandschicht d in 2 Unterschichten (d1, d2) ist weiterhin erkennbar. Im Epiplasma und Sporoplasma ist reichlich Glykogen vorhanden.

Plate V. — Apex of an ascus with a differentiated apical dome. — A : Before ascospore individualisation. The d layer (endotunica) shows two underlayers d1 and d2. This paraxial section shows longitudinal foldings along the ocular chamber. — B : Stadium with individualised ascospores (primary stadium). The d layer is subdivised in two underlayers d1 and d2. Glycogen is abundant in the epiplasm and in the sporoplasm.


A
c3
d1
d2
c2
c1
b
a
g
p
as
2 µm


B
z
c3
d
p
as
2µm
as
p

Planche VI. – Asques au cours de la maturation des ascospores (Patag). – A : Stade de début de maturation des ascospores. Dans le dôme apical la couche d (endotunica), amincie, est nettement stratifiée; la chambre oculaire est très surbaissée. L'ascospore cloisonnée a une importante périspore transparente aux électrons. L'épiplasme est riche en glycogène. – B : Stade de fin de maturation des ascospores. La paroi latérale de l'asque est amincie. Les ascospores ont de volumineux globules lipidiques; leur périspore transparente aux électrons est très développée.

Tafel VI. – Asci mit reifenden Ascosporen (Patag). – A : Stadium am Beginn der Sporenreife. In der apikalen Kuppel ist die hier dünnere Wandschicht d (Endotunica) deutlich geschichtet; die «chambre oculaire» ist stark abgeflacht. Die septierte Ascospore ist von einem deutlichen, elektronentransparenten Perispor umgeben. Das Epiplasma ist reich an Glykogen. – B : Stadium am Ende des Reifungsprozesses der Ascosporen. Die Wand an den Flanken des Ascus ist dünn geworden. Die Ascosporenzellen enthalten voluminöse Lipidglobuli; ihr elektronentransparentes Perispor ist gut entwickelt.

Plate VI. – Asci during the maturation of the ascospores (Patag). – A : Stadium at the beginning of maturation of the ascospores. In the apical dome the d layer (endotunica) is thinner and clearly layered; the ocular chamber is now large and shallow. The septate ascospore has a well developed electron transparent perispore. Glycogen is abundant in the epiplasm. – ■ : Stadium at the end of the ascospore maturation. The lateral wall of the ascus is thinner. The ascospores have important lipid bodies and their electron transparent perispore is well developed.


A
z
c2
c3
d1
d2
2µm

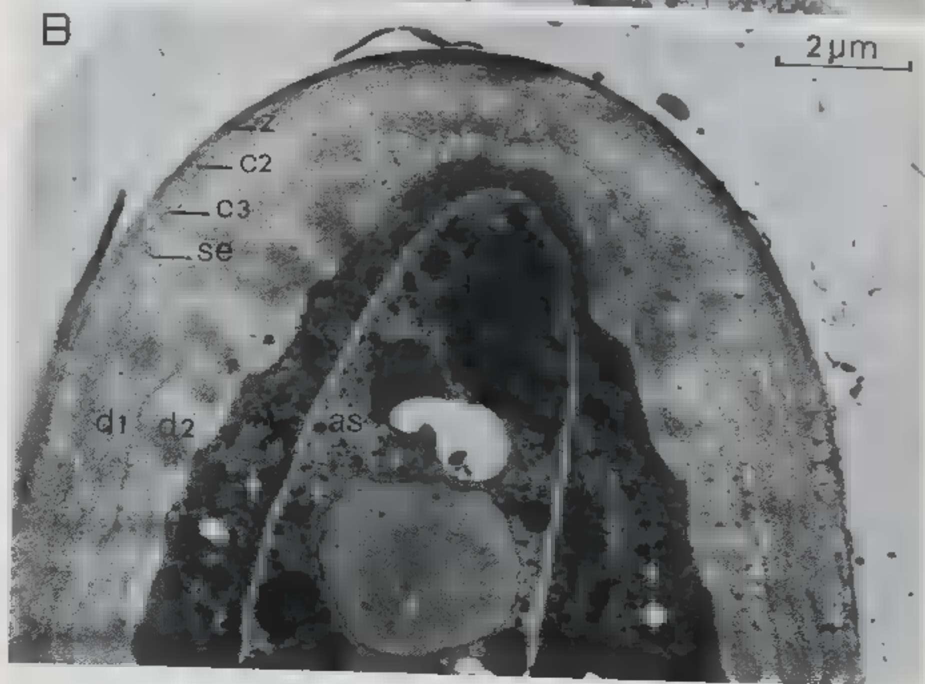

B
2µm
z
c2
c3
se
d1
d2
as

Planche VII. – Asque proche de la déhiscence (Patag). – A : Partie supérieure de l'asque. La stratification du dôme apical est effacée, et sa réactivité est faible. La périspore de l'ascospore très transparente aux électrons est bien développée (son épaisseur paraît artificiellement augmentée car l'ascospore est coupée de façon tangentielle et la périspore s'est un peu décollée de l'épiplasme au moment de la fixation). L'exotunica apicale est fortement réactive. – B, C : Paroi latérale de l'asque. Les divers constituants de l'exotunica sont bien distincts. Une ébauche de stratification apparaît dans la sous-couche c3. Dans l'endotunica on distingue les deux sous-couches d1 et d2 dans lesquelles on ne discerne pas de stratification.

Tafel VII. – Ascus kurz vor der Sporenabgabe (Patag). – A : Oberer Teil eines Ascus. Die Schichtung in der apikalen Kuppel ist verwischt und die Reaktivität ist gering. Das sehr elektronentransparente Perispore der Ascospore ist gut entwickelt (Dessen Dicke scheint durch tangentielle Schnittführung und dadurch, dass es sich im Augenblick der Fixierung etwas vom Epiplasma abgehoben hat, virtuell vergrössert). Die Exotunica ist apikal sehr reaktiv. – B, C : Wand an den Flanken des Ascus. Die verschiedenen Anteile der Exotunica sind deutlich sichtbar. Die Unterschicht c3 erscheint leicht gestreift. In der Endotunica kann man die beiden Unterschichten (d1, d2) unterscheiden, beide sind aber nicht lamelliert.

Plate VII. – Ascus just before dehiscence (Patag). – A : Upper part of the ascus. The apical dome is faintly reactive and shows no stratification. The perispore of the ascospore is well developed and very much transparent to the electrons. (With the tangential section of the ascospore the thickness of the perispore is artificially increased; the perispore has been somewhat separated from the epiplasm during the fixation). The apical exotunica is strongly reactive. – B, C : Lateral wall of an ascus. The different parts of the exotunica are well distinct. Some stratification is seen in the c3 underlayer. In the endotunica the two underlayers d1 and d2 are distinct; they show no stratification.

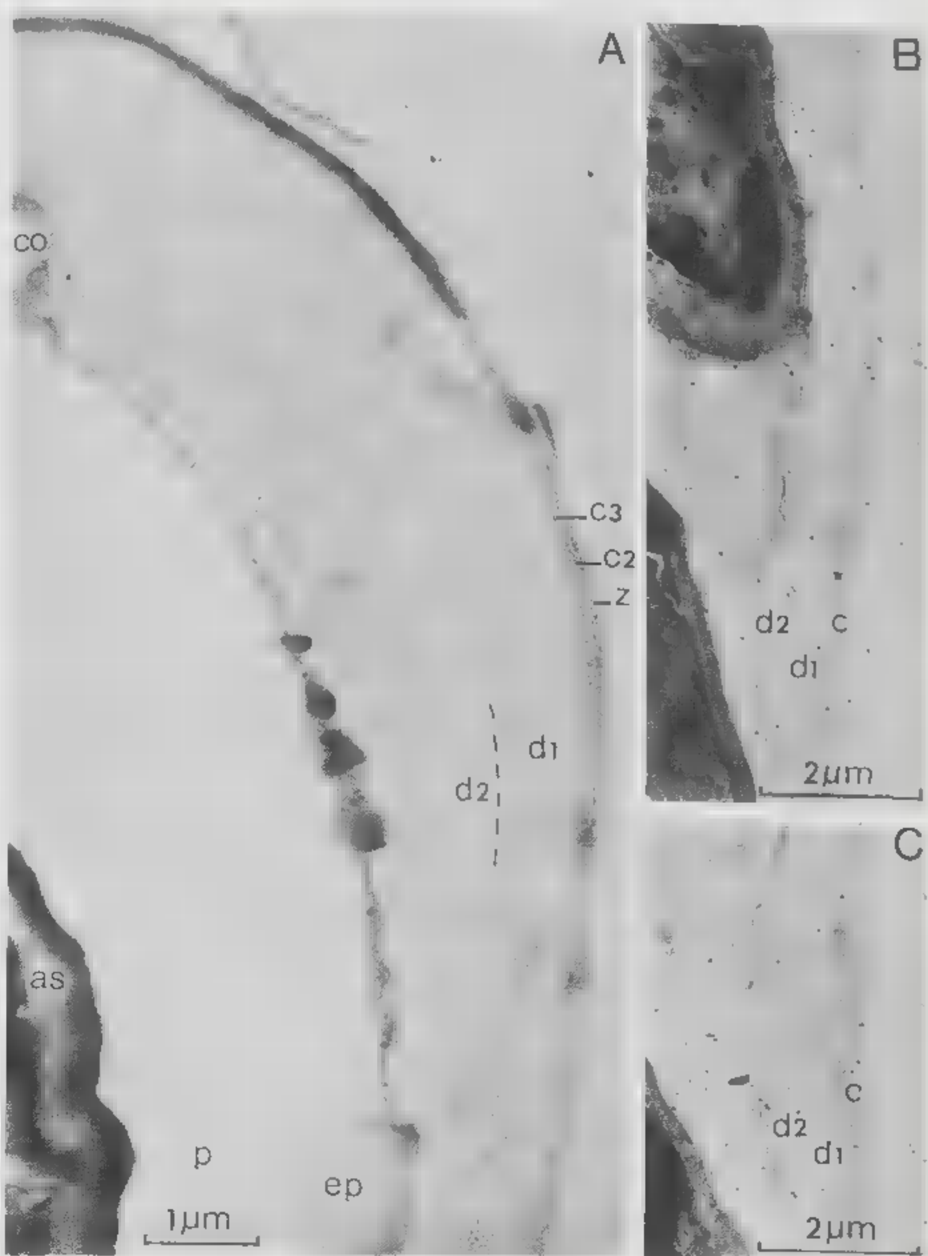

A
co
c3
c2
z
d1
d2
as
p
ep
1µm
B
d2
c
d1
2µm
C
c
d2
d1
2µm

Planche VIII. — Début de déhiscence de l'asque (Patag). — A : Ensemble, coupe oblique et paraxiale. L'endotunica peu réactive fait saillie hors de l'exotunica rompue et plus fortement Patag + (en particulier la strate externe de c3). La colorabilité de l'exotunica est anormale dans sa partie supérieure séparée de l'endotunica (voir le texte). — B : Détail de A.

Tafel VIII. — Ascus am Beginn der Sporenabgabe (Patag). — A : Übersicht (Schnitt schief und etwas ausserhalb der Längsachse). Die wenig reaktive Endotunica tritt gerade aus der gerissenen, stärker Patag-positiven Exotunica aus. Die Kontrastierbarkeit der Exotunica ist im oberen Teil, wo sie sich von der Endotunica gelöst hat, abnorm (siehe im Text). — B : Detail von A.

Plate VIII. — Beginning of the ascus dehiscence (Patag). — A : General view, oblique and paraxial section. Endotunica which is faintly reactive bursts out of the ruptured exotunica which is more firmly Patag + (specially the external layer of c3). The reactivity of the exotunica is abnormal in its upper part which is separated of the endotunica (see the text). — B : Detail of A.

A
ep
end
exo
as
p
2µm

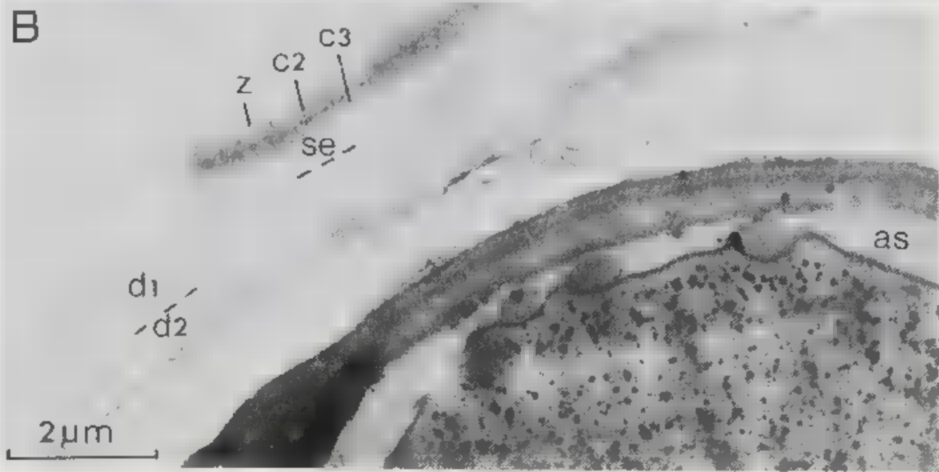

B
c3
c2
z
se
as
d1
d2
2µm

Planche IX. — Déhiscence de l'asque (suite) (Patag). L'endotunica saillante n'est pas encore rompue. La déhiscence est typiquement fissituniquée. Autour de chaque ascospore la périspore est abondante et dense.

Tafel IX. — Ascus bei der Sporenabgabe (Fortsetzung) (Patag). Die austretende Endotunica ist noch nicht gerissen. Die Öffnungsweise ist typisch fissitunicat. Um jede Ascospore ist ein deutliches, dichtes Perispor entwickelt.

Plate IX. — Dehiscence of the ascus (continuation) (Patag). — The bursting endotunica is not yet ruptured. The dehiscence is typically fissitunicate. Around each of the ascospores the perispore is dense and abundant.

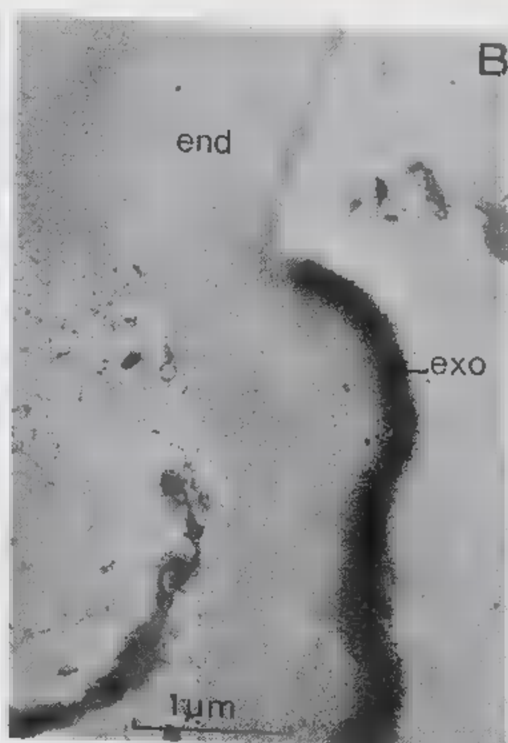


Source : MNHN, Paris

Planche X. — Asque au cours de la déhiscence (Patag). — A : Endotunica (couche d) dévaginée hors de l'exotunica. Les sous-couches d1 et d2 sont encore distinctes. — [redacted] et C : Détails de A. Dans l'exotunica la partie externe de la sous-couche c3 est particulièrement réactive. L'indentation marquant la rupture entre l'exotunica et l'endotunica se trouve sur l'emplacement de la lamelle claire qui est au contact de ces deux formations. Cette indentation peu profonde ne se prolonge pas vers la base de l'asque.

Tafel X. — Ascus im Zuge der Sporenabgabe (Patag). — A : Aus der Exotunica austretende Endotunica (Schicht d). Die Unterschichten d1 und d2 sind noch deutlich. — B, C : Details von A. In der Exotunica ist der äussere Teil der Unterschicht c3 besonders reaktiv. Der Schlitz, der die Rissstelle zwischen Exo- und Endotunica anzeigt, findet sich auf dem Niveau der hellen Lamelle, die im Kontaktbereich zwisvhen den beiden funktionellen Teilen vorhanden ist. Dieser wenig tiefe Schlitz verlängert sich nicht gegen die Ascusbasis.

Plate X. — Ascus during the dehiscence (Patag). — A : Endotunica (d layer) is devaginated out of the exotunica. The underlayers d1 and d2 are still distinct. — B and C : Details of A. In the exotunica the external part of the c3 underlayer is specially reactive. The indentation which results of the split between the exo- and the endotunica is at the place of the clear sheath which binded these two formations. This shallow indentation does not lengthen towards the ascus base.

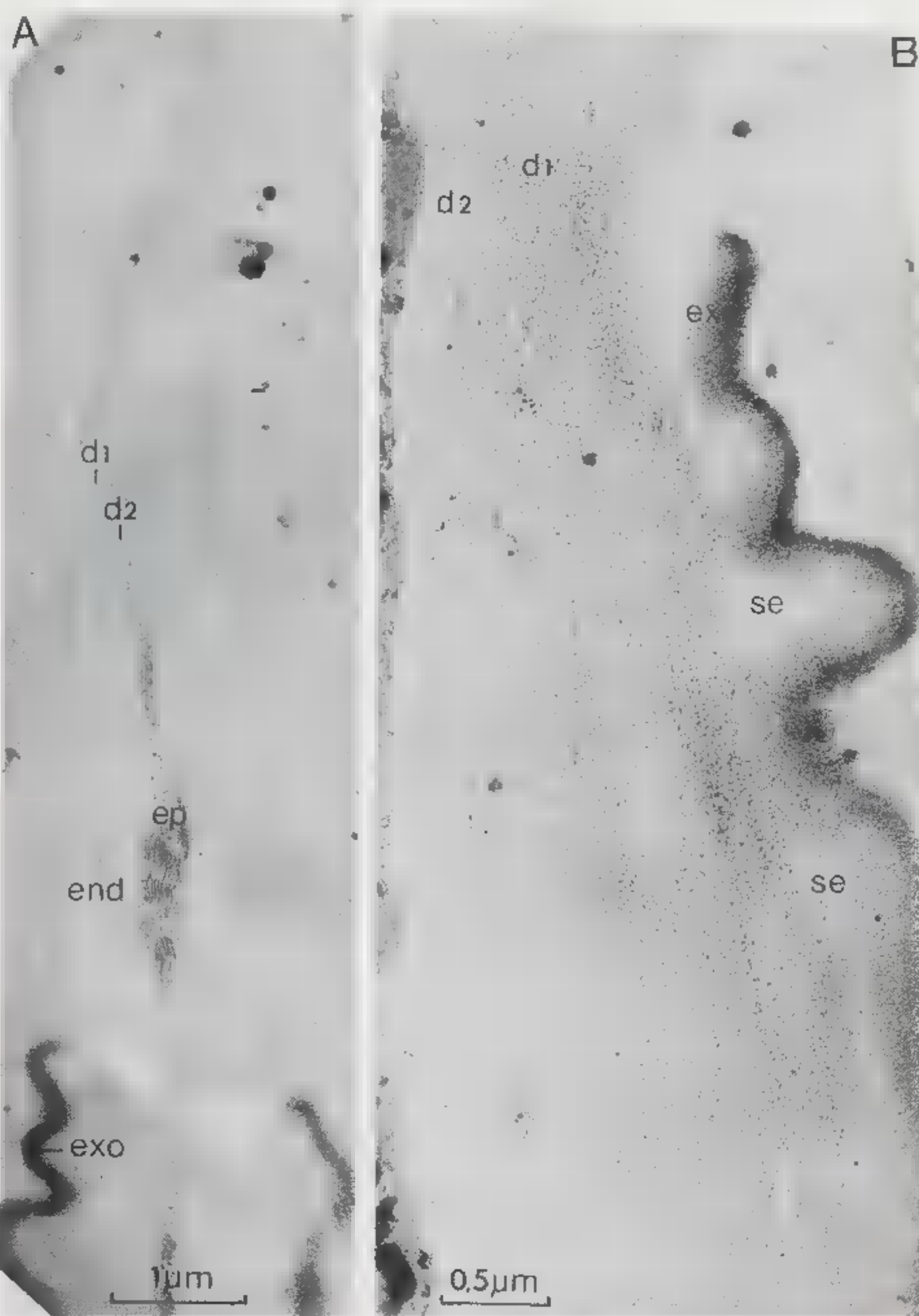

A
end
exo
d2
d1
3µm

B
end
exo
1µm

C
d1 d2
se
c3
ep
1µm

Planche XI. – Asque en fin de déhiscence (Patag). – A : Ensemble. – B : Détail. Endotunica et exotunica sont maintenant séparées sur toute la longueur de l'asque. L'exotunica épaissie [redacted] replie vers la base de l'asque. Dans l'endotunica on distingue mal les deux sous-couches d1 et d2.

Tafel XI. – Ascus nach der Sporenabgabe (Patag). – A : Übersicht. – B : Detail. Die Exo- und Endotunica haben sich nun auf der ganzen Länge des Ascus getrennt. Die verdickte Exotunica faltet sich gegen die Basis des Ascus hin zusammen. In der Endotunica sind die beiden Unterschichten (d1, d2) nur noch schlecht erkennbar.

Plate XI. – Ascus at the end of the dehiscence (Patag). – A : General view. – B : Detail. The endo- and the exotunica stay separated all along the ascus. The thickened endotunica is folded towards the base of the ascus. In the endotunica the two underlayers d1 and d2 are not clearly distinct.


A
d1
d2
ep
end
exo
1µm
B
d1
d2
ex
se
se
0,5µm

Source : MNHN, Paris

OPTIMUM TEMPERATURE AND RELATIVE HUMIDITY FOR SPORE GERMINATION AND GERM TUBE GROWTH OF *CURVULARIA PALLESCENS* ON GLASS SLIDES AND MAIZE LEAF

by D.B. OLUFOLAJI *

ABSTRACT. — Germination of spores and growth of ensuing germ tubes of *Curvularia pallescens*, were investigated on glass slides and on excised maize leaves. Investigations were carried out under temperatures of 15, 20, 25, 30, 35 and 40°C and relative humidity values of 70, 75, 80, 85, 90, 95 and 100 %. The results showed that optimum conditions of temperature and relative humidity for spore germination and germ tube growth of the fungus on both glass slides and excised maize leaves were 25 to 30°C and 95 to 100 % RH respectively. However, germination was greater on maize leaves than on glass slides.

RÉSUMÉ. — La germination des spores et la croissance des tubes germinatifs de *Curvularia pallescens* sont examinées sur lames de verre et sur feuilles de maïs excisées. Les examens sont réalisés à l'air libre, à des températures de 15, 20, 25, 30, 35 et 40°C, et à des humidités relatives de 70, 75, 80, 85, 90, 95 et 100 %. Les résultats montrent que les conditions optimales de température et d'humidité relative, pour la germination de la spore et la croissance du tube germinatif du champignon, sur lames de verre et sur feuilles de maïs excisées, sont respectivement de 25 à 30°C et de 95 à 100 %. Toutefois, on obtient une meilleure germination sur feuilles de maïs que sur lames de verre.

KEY WORDS: *Curvularia pallescens*, spore germination, germ tube growth.

INTRODUCTION

Curvularia leaf spot is a disease of maize and has in the last twenty years been reported to occur in most maize growing areas of the world (MABADEJE, 1969). In most studies of this disease, emphasis has been given on symptomatology and identification of the causal agent, *Curvularia pallescens* Boed. (FAJEMISIN, 1975; MABADEJE, 1969). However, environmental factors affecting spore germination and germ tube growth have not been investigated in detail

* Department of Agricultural Biology, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.
Present address : Sugar Research Institute, University of Ilorin, Nigeria.

even though such informations could aid to understand the physiology and its relationship to its host.

In this paper, we sought to determine temperature and relative humidity conditions required for optimum germination and germ tube growth of *C. pallescens* either on the surfaces of glass slides or maize leaves.

MATERIALS AND METHODS

The isolates of *Curvularia pallescens* used during this study was obtained from diseased maize leaves at the National Cereals Research Institute, Moor Plantation, Ibadan, Nigeria. It was maintained in culture by repeated transfers on potato dextrose agar in standard petri-dishes.

Whenever it was desired to use spore suspension, [redacted] small quantity (10 ml) of sterile distilled water was poured on to each of 12 days old sporulating cultures with the aid of a bent glass rod, the spores were dislodged and put into suspension in the water. Spore suspensions were filtered through a double layer of sterile fine muslin cloth to remove the hyphae. Filtrates were then poured into McCartney bottles and centrifuged at 2750 x [redacted] for five minutes. The supernatant was discarded and the spore suspension was concentrated by centrifuging as required with distilled water. Fusch's Rosenthal haemocytometer was used for the standardization of the spores suspension.

The relative humidity (RH) values used were 70, 75, 80, 85, 90, 95 and 100 %. They were obtained by preparing saturated solutions of various salts in accordance with the method of WINSTON & BATES (1960). The temperature used : 15, 20, 25, 30, 35, and 40°C, were obtained by adjusting the settings on a series of Gallenkamp incubators. For each desired RH value, three quarters of the basement parts of separate desiccators were filled with the appropriate salt solutions and a piece of wire gauze placed at the constricted region, few centimeter above the liquid. The desiccators were covered and opened only when specimens were put in or taken out. The edge of the desiccators lids were smeared with vaseline before closing in order to maintain the desired RH values and then placed inside the incubator for the desired temperature values.

Spore germination on glass slides, was determined by placing a drop (0.1 ml) of the spore suspension containing 1.0×10^4 spores/ml of sterile distilled water at the centre of a clean microscope slide. Slides were air dried for approximately ten minutes and the inoculated sites were inverted on the cavity of specimen glass cubes in the desiccators containing the appropriate RH salt solutions. Five replicates were made with all combinations of temperature and RH values.

Germination and germ tube growth were determined after 24 hours incubation. For germination counts, [redacted] total of 400 to 500 spores were examined at random per replicate and percentage germination was determined.

Spore germination on maize leaves was carried out on four 21 days old maize cultivar leaves. The cultivars were Msc-02, Milho, T.T. and Igbira. For each

cultivar, leaves were cut into 3 x 7 cm pieces and treated with a drop of the spore suspension similar to those on the glass slides. Spore germination was investigated on both upper and lower surfaces of the four maize cultivars used in the tests.

In one set of experiments, spore germination was carried out at a constant temperature of 25°C but at RH values of 95 and 100 %. In another, RH of 100 % but at temperature of 15, 20, 25, 30, 35 and 40°C.

Following incubation, the leaves were placed on glass slides, stained with lactophenol cotton blue and warmed on a hot plate for a few seconds to clear the leaves and stain the spores. Spores were then examined and the percentage germination determined.

RESULTS

Spore germination on glass slides occurred at all temperatures except 40°C. Of the seven RH values used, germination occurred only at 95 and 100 %; consequently, only the results for 95 and 100 % RH are shown in Tables 1 and 2.

Table 1 – Effect of temperature and relative humidity on spore germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens*, on glass slides.

Tableau 1 – Effet de la température et de l'humidité relative sur la germination des spores et sur la croissance des tubes germinatifs de *Curvularia pallescens*, sur lames de verre.

Incubation Relative Humidity (%)	Temperature °C						R.H. Mean
	15	20	25	30	35	40	
Germination (%)							
95	28	53	88	89	40	4	49.8 b
100	48	66	92	93	50	3	58.7 a
Temp. mean	38.0 c	59.5 b	90.0 a	91.0 a	45.5 c	3.5 d	
Intercalary germination (%)							
95	31	50	61	60	40	0	40.3 b
100	41	78	80	78	53	0	55.0 a
Temp. mean	36.0 d	64.0 b	70.5 a	69.0 a	45.5 c	0.0 c	
Germ tube branching (%)							
95	41	60	72	61	36	1	45.2 b
100	46	70	79	60	50	1	51.0 a
Temp. mean	43.5 c	65.0 b	75.5 a	60.5 b	43.0 c	1.0 d	
Length of germ tubes (µm)							
95	200	281	362	408	316	31	281 b
100	216	416	764	871	394	41	450 a
Temp. mean	208 a	348 c	563 b	639 a	355 a	36 e	

Nota : – Mean values not followed by the same letter are significantly different (P = 0.05) according to Duncan's multiple range test.
– Data were obtained from a total of about 400 spores counted after 24 hours of incubation.

Table 2 – Variance analysis for the effect of temperature and relative humidity on spore germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens*, on glass slides.

Tableau 2 – Analyses de variance pour l'effet de la température et de l'humidité relative sur la germination des spores et sur la croissance des tubes germinatifs de *Curvularia pallescens*, sur lames de verre.

Source of variation	Degrees of freedom	Mean squares: Germination	Intercalary germination	Germ tube branching	Length of germ tube
R.H.	[illegible]	108.69 **	2 089.26 **	3 638.44 **	546 219.84 **
Error (a)	[illegible]	16.73	23.16	24.11	489.43
Temperature	4	4 951.65 [illegible]	9 297.88 **	17 522.19 **	1 340 066.50 **
R.H. x Temp.	4	628.00 [illegible]	3 634.80 **	5 821.62 [illegible]	442 330.45 **
Error (b)	32	48.91	51.31	62.31	[illegible] 890.64

* = significant at P=0,05
** = significant at P=0.01

Temperature and RH had considerable individual and combined effects on percentage germination, ability to germinate in more than one of the spore cells (intercalary germination), branching and length of the germ tubes (Tab. 1, 2).

Table 3 – Effect of relative humidity and maize cultivars (at 25°C) on spore germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens*.

Tableau 3 – Effet de l'humidité relative et de différents cultivars de maïs (à 25°C) sur la germination des spores et sur la croissance des tubes germinatifs de *Curvularia pallescens*.

Incubation Relative Humidity (%)	Maize cultivars: Msc-02	Milho	Igbira	T.T.
Germination (%)				
95	89 b	90 b	91 b	86 b
100	97 a	100 a	99 a	99 a
Intercalary germination (%)				
95	64 b	65 b	60 b	61 b
100	77 a	80 a	81 a	79 a
Germ tube branching (%)				
95	80 b	78 b	77 b	79 b
100	91 a	88 a	89 a	92 a
Length of germ tubes (µm)				
95	390 b	403 b	389 b	420 b
100	890 a	916 a	881 a	989 a

Nota : – For each trait and within each column, values not followed by the same letter are significantly different at P = 0.05 (Duncan's multiple range test).
– Data were obtained from a total of about 400 spores counted after 24 hours of incubation.

Relative humidity of 100 % was significantly better for spore germination than 95 % RH. Temperature of 25 and 30°C were optimum for germination and germ tube growth. However, when temperature regimes were considered along with RH, the optimum temperature was narrower with 95 % than 100 % (Tab. 1). Generally, temperature and RH regimes for germination were wider than those for germ tube growth.

In the case of maize leaves, germination and growth parameters were optimum at 100 % RH (Tab. 3). With these leaves, no significant effect of the cultivar on any of the spore germination traits measured could be observed (Tab. 3, 4). However, effects of RH and the cultivars x RH interaction were significant. For the germination and germ tube growth parameters, 100 % RH was optimum (Tab. 3).

Table 4 — Variance analysis for the effect of relative humidity and maize cultivars (at 25°C) on spore germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens.*

Tableau 4 — Analyses de variance pour l'effet de l'humidité relative de différents cultivars de maïs (à 25°C) sur la germination des spores et sur la croissance des tubes germinatifs de *Curvularia pallescens.*

Source of variation	Degrees of freedom	Mean squares			
		Germination	Intercalary germination	Germ tube branching	Length of germ tube
Cultivars	3	9.29	61.11	48.07	[illegible] 774.50
Error (a)	12	18.24	29.10	24.91	[illegible] 916.42
R.H.	1	145.00 *	569.19 **	1 572.01 **	128 664.09 **
Cult. x R.H.	3	88.60 *	123.41 *	177.87 **	33 180.00 [illegible]
Error (b)	13	21.61	30.10	24.90	3 084.73

* = significant at P=0.05
** = significant at P=0.01

Temperature had a significant effect on spore germination and germ tube growth. But, the cultivar on which spores germinated had no effect on those phenomena (Tab. 5, 6). Temperature regimes of 25-30°C were the optimum for spore germination and germ tube growth whereas intercalary germination and germ tube branching had their optimum at 25°C.

Spore germination on glass slide was significantly different from those on maize leaves surfaces (Tab. 7). Furthermore, spore germination and growth of germ tubes on adaxial surfaces of maize leaves were not different from those on the abaxial surfaces, thus results were shown for one surface only.

Table 5 – Effect of temperature and maize cultivars (at 100 % R.H.) on spore germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens*.

Tableau 5 – Effet de la température et de différents cultivars de maïs (à 100 % R.H.) sur la germination des spores et sur la croissance des tubes germinatifs de *Curvularia pallescens*.

Temperature °C	Maize cultivars Msc-02	Milho	Igbira	T.T.
Germination (%)				
15	52 d	50 d	48 d	55 d
20	76 b	80 b	77 b	82 b
25	98 a	99 d	100 a	96 a
30	96 a	95 a	97 a	97 a
35	63 c	63 c	71 c	72 c
Intercalary germination (%)				
15	42 d	43 d	52 c	54 c
20	71 b	70 b	86 b	79 a
25	80 a	79 a	78 a	83 a
30	69 b	68 b	71 b	68 b
35	48 c	51 c	55 c	53 c
Germ tube branching (%)				
15	51 d	41 d	39 e	44 d
20	78 b	70 b	70 b	72 b
25	91 a	89 a	88 a	94 a
30	68 c	71 b	66 c	77 b
35	44 d	51 c	52 d	49 d
Length of germ tubes (µm)				
15	391 e	400 c	381 e	419 c
20	492 b	580 b	515 b	600 b
25	894 a	900 a	1000 a	991 a
30	1009 a	1001 a	1100 a	998 [illegible]
35	600 b	594 h	608 b	596 b

Nota : – For each trait and within each column, values not followed by same letter are significantly different at P = 0.05 (Duncan's multiple range test).
– Data were obtained from a total of about 400 spores counted after 24 hours of incubation.

Table 6 – Variance analysis for the effect of temperature and maize cultivars (at 100 % R. H.) on spore germination and germ tube growth of *Curvularia pallescens*.

Tableau 6 – Analyses de variance pour l'effet de la température et de différents cultivars de maïs (à 100 % R.H.) sur la germination des spores et sur la croissance des tubes germinatifs de *Curvularia pallescens*.

Source of variation	Degrees of freedom	Mean squares: Germination	Intercalary germination	Germ tube branching	Length of germ tube
Cultivars	3	12.99	30.85	19.48	[illegible] 475.52
Error (a)	16	6.10	5.93	9.91	2 121.10
Temperature	4	95.42 **	565.18 **	348.40 *	103 158.10 **
Cult. x Temp.	12	65.20 **	66.87 **	49.91 **	20 314.39 **
Error (b)	80	10.14	21.16	16.10	66 100.42

* = significant at P=0.05

[illegible] = significant at P=0.01

Table 7 – Comparison of spore germination of *Curvularia pallescens* on glass slides and maize leaves surfaces.

Tableau 7 – Comparaison de la germination des spores de *Curvularia pallescens* sur lames de verre et feuilles de maïs.

Temperature °C	Relative Humidity %	Germination (%)	
		Glass slide	Maize leaves
25	95	84 c	90 [redacted]
25	100	89 bc	98 a
30	95	87 c	97 [redacted]
30	100	[redacted] c	93 b

Nota : – Mean values in the same column not followed by the same letter are significantly different at P = 0.05 (Duncan's multiple range test).

DISCUSSION

In this study the optimum temperature for germination was between 25 and 30°C. This is similar to the results of COCHRANE (1958) who found that optimum temperature for germination and growth of many non-pathogenic fungi was 25-30°C. Branching and germ tube elongation also had optimum temperature range of 25-30°C.

It has been recognized that most fungal spores must absorb water and swell before germination can occur (BONNER, 1948), it follows that water would be vital in the germination of fungal spores. Therefore it is possible that good germination and profuse germ tube growth of *Curvularia pallescens* spores at high RH (95 and 100 %) was due to the availability of enough moisture for imbibition and swelling prior to spore germination.

Based on the temperature - humidity interaction demonstrated in this study, it is inferred that neither temperature nor RH could be treated in isolation in studies of fungal spores involving germination of germ tube growth. GROOM & PANISSET (1933) noted that the optimum temperature range for *Penicillium chrysogenum* became narrower at lower RH. Also, BONNER (1948) found that RH for optimum germination of *Aspergillus niger* spores increased with increase in temperature. These results were also confirmed in this study where optimum temperature range for spore germination and germ tube growth was narrower at 95 % (25-30°C) than at 100 % (20-30°C). Thus a higher humidity may be needed to compensate for [redacted] higher temperature effect on biochemical activities prior to spore germination. It might be true that the temperature optima were governed by hydrolytic enzymes required to drive an enzymatic reaction to [redacted] stage which could in turn trigger the germination processes.

Germination of *Curvularia pallescens* spores on glass slides was significantly lower than that on leaf surfaces. Also, the maize cultivar from which the leaves

were obtained did not affect spore germination. It had been reported by KOSUGE & HEWITT (1964), that glucose and fructose which accumulate in water placed on grape leaves are sufficient to stimulate germination of spores as well as growth of *Botrytis cinerea*. A similar phenomenon may contribute to the greater spore germination and germ tube growth of *C. pallescens* on maize leaf surfaces than on glass slides. This opens up an area which deserves more study in order to know the type and amount of the compounds that affect spore germination on maize leaf surfaces.

REFERENCES

BONNER J.T., 1948 – A study of the temperature and humidity requirements of *Aspergillus niger*. *Mycologia* 40 : 728-738.

COCHRANE V.W., 1958 – *Physiology of fungi*. New York, J. Wiley and Sons Inc., 542 p.

FAJEMISIN J.M., 1975 – Resistance to *Curvularia* leaf spot of maize (*Zea mays* L.). Proceedings of 3rd annual conference of genetics Society of Nigeria, 1975 : 59-62.

GROOM P. and PANISSET T., 1933 – Studies of *Penicillium chrysogenum* Thom. in relation to temperature and relative humidity of the air. *Ann. Appl. Biol.* 20 : 633-660.

KOSUGE T. and HEWITT B.W., 1964 – Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of *Botrytis cinerea*. *Photopathology* 54 : 167-172.

MABADEJE S.A., 1969 – *Curvularia* leaf spot of maize. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 52 : 267-271.

WINSTON P.W. and BATES D.H., 1960 – Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41 : 232-237.

Cryptogamie, Mycol. 1986, 7 (2) : 157-180

INFLUENCE D'UNE BACTÉRIE *PSEUDOMONAS* SUR LA CROISSANCE ET LA REPRODUCTION D'UN CHAMPIGNON DISCOMYCÈTE *SCUTELLINIA UMBRARUM*

par J.P. SCHRANTZ*

RÉSUMÉ. – Le *Scutellinia umbrarum* produit des chlamydospores et des apothécies fertiles lorsqu'il est cultivé avec un *Pseudomonas*. Le mycélium pur, récemment séparé de la colonie bactérienne, produit des chlamydospores et des apothécies stériles. Il devient complètement stérile au deuxième repiquage. La croissance pondérale du mycélium contaminé, comparée à celle du mycélium pur, est fortement inhibée. Au contraire la colonie bactérienne se développe mieux en compagnie du champignon. Elle supprime la zonation et les caroténoïdes qui apparaissent dans les cultures de mycélium pur. Le rôle possible des caroténoïdes est discuté. L'examen microscopique des cultures montre que le *Pseudomonas* entraîne une diminution du développement mycélien, une baisse des réserves (lipides et glycogène) et la mort d'un grand nombre d'articles. Les bactéries sont liées aux parois, elles ne pénètrent pas dans les hyphes vivantes. Les caractéristiques ultrastructurales des hyphes ne sont pas modifiées. Le *Pseudomonas* se comporte comme un antagoniste du *Scutellinia*.

SUMMARY. – *Scutellinia umbrarum* produces chlamydospores and fertile apothecia when it is cultivated with *Pseudomonas* sp. The pure mycelium, recently separated from the bacterial colony, produces chlamydospores and sterile apothecia. It becomes entirely sterile at the second transplanting. The ponderal growth of the contaminated mycelium, compared with that of pure mycelium, is strongly inhibited. On the contrary the bacterial colony grows better when it is in the presence of the fungus. Bacteria removes zonation and carotenoids which appear in cultures of pure mycelium. The possible role of carotenoids is discussed. The microscopic study of cultures shows that *Pseudomonas* induces decrease of fungal growth, decline of lipids and glycogen, and death of numerous hyphae. Bacteria are fixed at the wall of hyphae, they do not enter into living hyphae. The ultrastructural features of hyphae are not modified. *Pseudomonas* behaves like an antagonist of *Scutellinia*.

MOTS CLÉS : Discomycètes, culture, reproduction sexuée, chlamydospores, *Pseudomonas*, *Scutellinia*, interaction bactérie - champignon.

* Université Pierre et Marie Curie (Paris 6) UER 59. Laboratoire de Biologie Végétale, 77300 Fontainebleau, France.

INTRODUCTION

Dans une publication antérieure (SCHRANTZ, 1980) nous avons signalé la production d'apothécies et de chlamydospores par un *Scutellinia* (Discomycète) cultivé *in vitro* en présence de plusieurs bactéries parmi lesquelles un *Aeromonas* et un *Arthrobacter* avaient pu être isolés. Par son caractère original cette association nous a paru intéressante à étudier notamment afin de déterminer les rapports existant entre les partenaires. De telles associations sont peu connues. Dans le cas des Ascomycètes, MOLLIARD (1903) avait observé que les *Ascobolus* ne produisaient des fructifications que lorsque les cultures étaient contaminées par des bactéries. Il souligna l'importance de cette association au point de vue théorique et pratique, mais malheureusement ces expériences ne furent pas poursuivies, sans doute parce que les *Ascobolus* se cultivent et fructifient facilement sur des milieux naturels et synthétiques (Van BRUMMELEN, 1967). On trouve d'autres cas où la reproduction d'un champignon est seulement stimulée par un autre microorganisme (SARTORY, 1916, 1918; McCORMICK, 1925; WILSON, 1927; ASTHANA & HAWKER, 1936). Dans le cas des Basidiomycètes PARK & AGNIHORTI (1969) ont montré que plusieurs bactéries du sol stimulaient la production des carpophores de l'*Agaricus bisporus*.

Plus récemment AL-ALI & al. (1979) en cherchant à mettre au point une méthode de lutte biologique contre l'*Helminthosporium teres*, parasite de l'orge, ont rencontré plusieurs champignons ayant une bonne action inhibitrice sur la croissance mycélienne de ce champignon mais induisant la formation de périthèces ou de chlamydospores.

Notre travail a d'abord consisté à rechercher si toutes les souches bactériennes isolées avaient la même action sur le *Scutellinia umbrarum*. Ensuite nous avons entrepris une étude comparée du champignon cultivé avec ou sans bactéries. Ce travail a porté sur l'étude de la croissance des points de vue cinétique et pondéral, sur la morphogenèse des cultures et sur leurs caractères cytologiques. Enfin des confrontations ont été effectuées afin de mettre en évidence un éventuel antagonisme.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Techniques de culture.

Les cultures contaminées dérivent toutes de la souche qui a servi dans notre premier travail : elle était issue d'une sporée de plusieurs apothécies apparues sur des fragments de bois en décomposition, mêlés à du terreau, dans une serre chaude. Les inoculums sont constitués par des fragments de cultures âgées de 2 à 12 mois, portant des apothécies mûres et des bactéries. Les ensemencements sont effectués en tube à essai de 25 x 200 mm contenant 20 ml de milieu incliné, à 1 % d'extrait de malt et 1,5 % d'agar-agar. Pour l'étude de l'antagonisme nous avons utilisé des boîtes de Pétri de 90 mm avec 30 ml de milieu.

L'obtention d'un mycélium pur présente quelques difficultés car il est nécessaire d'éliminer les bactéries sans altérer le champignon. Après avoir eu recours aux antibiotiques (pénicilline + streptomycine puis colistine) nous avons préféré réaliser une séparation mécanique en prélevant le front des cultures, mettant à profit le fait que le champignon s'accroît plus vite que les bactéries au début du développement, et ne les entraîne pas toujours. De nombreux prélèvements sont cependant nécessaires car le mycélium reste souvent contaminé. Quoi qu'il en soit cette méthode nous a permis de sélectionner plusieurs souches mycéliennes pures à l'abri des altérations que peuvent provoquer les antibiotiques.

L'isolement des bactéries est plus aisé. En effet, en milieu liquide, le développement du champignon est totalement inhibé par la colonie bactérienne. Initialement les premiers isolements avaient montré la présence d'un *Aeromonas* et d'un *Arthrobacter*. Ces souches se sont révélées inactives. Par contre un *Pseudomonas*, qui n'avait pas été identifié, a été isolé et identifié par P. KAISER de l'Institut National Agronomique de Paris. Ce *Pseudomonas* s'est révélé seul capable d'induire la reproduction sexuée du champignon de façon régulière. Les repiquages hebdomadaires pratiqués depuis plus de cinq années aboutissent toujours à des cultures fertiles. Ajoutons que la détermination de l'espèce du champignon reste délicate. Le genre *Scutellinia* qui comprend un assez grand nombre d'espèces de climats tempérés et chauds a fait l'objet de plusieurs contributions taxinomiques de LE GAL (1966, 1968, 1971) en vue d'une importante monographie à l'échelle mondiale restée inachevée*. Les publications existantes ont permis de rapporter le champignon isolé à l'espèce *S. umbrarum* (Fr.) Lambotte.

L'incubation des cultures est réalisée dans une pièce où la température reste voisine de 25°. La lumière est fournie par des tubes fluorescents Philips et la photopériode est de 9 heures.

2. Mesures de la croissance.

Croissance radiale : l'extension du mycélium à partir de l'inoculum situé à la base du milieu gélosé incliné est mesurée tous les jours jusqu'au recouvrement total. A chaque expérience 12 tubes sont ensemencés avec du mycélium pur et le même nombre par du mycélium contaminé. Ces essais ont été renouvelés dix fois. Les courbes représentent la longueur moyenne en millimètres d'une culture en fonction du temps.

Croissance pondérale : pour l'estimation de la croissance pondérale les cultures sont lavées plusieurs fois à l'eau chauffée au bain marie bouillant afin d'éliminer l'agar-agar. Le mycélium est pesé après séchage. Les courbes représentent le poids moyen en milligrammes de 12 cultures en fonction du temps. Ce traitement des cultures par l'eau chaude, en entraînant les molécules hydrosolubles,

* Le décès de Mme LE GAL n'a malheureusement pas permis l'achèvement de cette mise au point.

ne permet pas d'atteindre un haut degré de précision dans la mesure de la masse mycélienne, il permet cependant d'effectuer des comparaisons.

3. Étude de l'antagonisme.

Champignon et bactérie sont repiqués à 50 mm l'un de l'autre dans des boîtes de Pétri de 90 mm. La croissance des colonies est suivie chaque jour. L'inhibition de la croissance s'évalue en pourcentage en appliquant la relation de VAN DEN HEUVEL comme l'ont fait AL-ALI & al. (1979).

$$I\ (\%) = \frac{R - r}{R} \times 100$$

où R est le rayon de la colonie fongique, dans une direction ne passant pas par la colonie bactérienne et r le rayon de la même colonie passant par la colonie bactérienne.

4. Techniques cytologiques.

Des fragments de culture sur gélose sont fixés pendant 5 h dans le glutaraldéhyde à 3 % dans un tampon phosphate 0,1 M de pH 7,2 à la température ambiante. Après plusieurs lavages soigneux quelques fragments sont post-fixés par le tétroxyde d'osmium à 1 % durant 2 h, rincés, déshydratés par l'éthanol et après trois bains d'oxyde de propylène inclus dans un mélange epon-araldite ou dans le milieu de SPURR (1969). Les coupes obtenues au microtome SERVALL sont contrastées par l'acétate d'uranyle en solution aqueuse saturée, à 40° pendant 1 h, puis par le citrate de plomb suivant VENABLE & COGGESHALL (1965). Pour la mise en évidence des polysaccharides les coupes sont traitées suivant la méthode originale de THIÉRY (1967). Elles sont ensuite observées avec un microscope électronique SIEMENS ELMISKOP I.

Pour la microscopie optique les autres fragments, fixés seulement par le glutaraldéhyde et rincés, servent à la confection de coupes à main levée que l'on dépose sur des lames de verre. Après séchage à l'air ambiant, ces coupes peuvent être traitées par la plupart des colorants. Elles donnent une image de la texture des cultures plus fidèle que celle obtenue avec des coupes à la paraffine, tout en permettant l'étude fine des constituants cellulaires. L'inclusion à la paraffine a cependant été utilisée pour l'étude des apothécies. La coloration au «nuclear fast red»/bleu alcian de BENES & KAMINEK (1973) met bien en évidence l'ARN, les noyaux et les corps de Woronin. Le bleu de toluidine à pH 6,5, en donnant une bonne coloration d'ensemble, permet d'estimer le développement mycélien des cultures. Pour localiser les lipides nous avons employé le noir Soudan dans l'alcool à 60° à saturation, ainsi que le tétroxyde d'osmium à 1 %. Le montage est effectué dans le sirop d'Apathy qui évite la déshydratation. La gomme iodée (LANGERON, 1949) révèle le glycogène par sa coloration brun acajou. Le bleu de toluidine à pH 4,4 suivi d'un rinçage dans HCl 0,1 N met en évidence les polyphosphates par leur métachromasie (WIAME, 1949). L'amido-black 10 B (FISHER, 1968) colore spécifiquement les protéines. Des digestions

enzymatiques de contrôle sont effectuées par la pronase Calbiochem en solution à 0,2 % dans un tampon phosphate 0,05 M, pH 7,4, à 37°, ou par la pepsine Fluka, trois fois cristallisée, en solution à 0,2 % dans HCl 0,1 N, à 37°, pendant 3 h. Les pigments caroténoïdes sont recherchés sur le matériel vivant sans coloration, et après action de la solution iodo-iodurée ou de l'acide sulfurique concentré. Nous utilisons également le procédé d'extraction préconisé par ARPIN (1968).

RÉSULTATS

1 - Étude de la croissance mycélienne.

La croissance radiale (Fig. 1) est mesurée à partir du 4ème jour : les colonies du mycélium pur (courbe en trait plein) ont alors 18 mm et celles du mycélium contaminé (courbe en tirets) 23 mm. Les 100 mm (recouvrement total du milieu) sont atteints vers le 13ème jour par le mycélium contaminé tandis qu'il

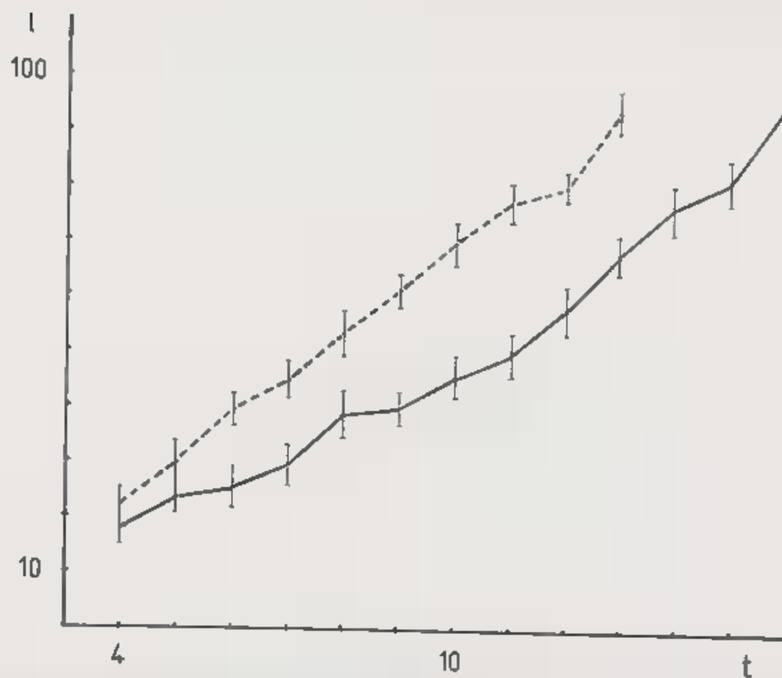


Fig. 1. — Progression du front du mycélium du *Scutellinia*. 1 : longueur d'une culture en millimètres, t : temps en jours. Chaque point représente la valeur moyenne de 30 mesures; chaque barre verticale correspond à l'écart-type. Courbe en trait plein : mycélium pur. Courbe en tirets : mycélium contaminé.

Fig. 1. — Progression of the front of the mycelium of *Scutellinia*. 1 : length of a culture in mm, t : time in days. Each point is the average of 30 data; the bars indicate the standard deviation. Solid line : pure mycelium. Dashed line : contaminated mycelium.

faut plus de 16 jours au mycélium pur pour y parvenir. Le calcul de l'écart-réduit ϵ entre les deux points d'un même jour montre que la différence entre ces deux moyennes est toujours significative (écart-réduit $\epsilon > 1,96$) même pour le 4ème jour ($\epsilon = 5,57$) et le 5ème jour ($\epsilon = 7,62$) où les variations des deux moyennes se recouvrent.

Les vitesses de croissance des fronts mycéliens calculées entre les 4ème et 13ème jour et exprimées en mm jour^{-1}, sont pour le mycélium pur : 5,47 - 1,53 - 4,5 - 9,07 - 1,2 - 5,63 - 4,5 - 8,1 - 10,57 et pour le mycélium contaminé : 7,53 - 9,64 - 5,4 - 8,7 - 7,93 - 8,3 - 7,13 - 2,91 - 14,83. Mis à part les 7ème et 11ème jour, la vitesse de croissance du mycélium contaminé est toujours supérieure à celle du mycélium pur. Les moyennes des deux séries sont respectivement 5,61 et 8,04. Ces chiffres montrent que la croissance radiale est stimulée par la colonie bactérienne. Si l'on se réfère à l'échelle établie par BERTHET (1964) qui a cultivé de nombreux Discomycètes, la vitesse de croissance du mycélium du

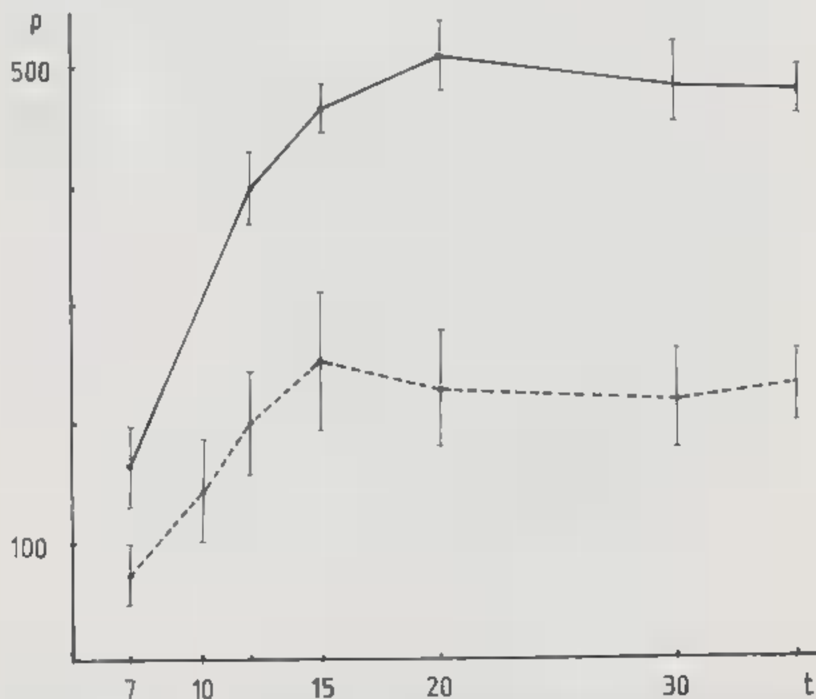


Fig. 2. — Croissance pondérale du mycélium du *Scutellinia*. p : poids en milligrammes de 12 cultures, t : temps en jours. Chaque point représente la valeur moyenne de 6 mesures; chaque barre verticale correspond à l'écart-type. Courbe en trait plein : mycélium pur. Courbe en tirets : mycélium contaminé.

Fig. 2. — Ponderal growth of the mycelium of *Scutellinia*. p : weight of 12 cultures in mg, t : time in days. Each point is the average of 6 data; the bars indicate the standard deviation. Solid line : pure mycelium. Dashed line : contaminated mycelium.

Scutellinia est rapide lorsqu'il est pur et très rapide lorsqu'il est en présence du *Pseudomonas*.

Les courbes de la croissance pondérale (Fig. 2) ont été établies entre le 7ème et le 35ème jour qui correspond à l'apparition des apothécies dans les cultures contaminées. Ces courbes ont des profils comparables et il apparaît manifestement qu'à tout moment la masse de matière produite par les cultures contaminées (courbe en tirets) est très nettement inférieure à celle que produisent les cultures pures (courbe en trait plein). Ici, comme le nombre des mesures est petit (6 à 8), le test de comparaison n'est plus fondé sur la valeur de l'écart-réduit ϵ mais sur la valeur de t. Ces calculs montrent que pour tous les points, la différence des moyennes est significative à mieux que 1 ‰.

La colonie bactérienne inhiberait donc la croissance mycélienne du point de vue pondéral alors qu'elle stimulerait la vitesse de croissance du front mycélien.

2 - Étude macroscopique des cultures.

A partir de l'inoculum, situé à la base du tube, le mycélium et la colonie bactérienne s'accroissent en même temps jusqu'au quatrième jour. Ensuite le mycélium émerge de la colonie bactérienne.

Le mycélium pur prend très tôt une coloration orangée. En même temps se développe une zonation formée par une alternance de bandes claires et de bandes fortement colorées disposées sur des arcs de cercles concentriques ayant pour centre l'inoculum. Cette zonation débute près du front de la culture et s'étend ensuite jusque vers l'inoculum (Pl. I-1). La plupart des cultures pures n'évoluent plus, elles conservent cet aspect jusqu'au dessèchement. Cependant celles issues du premier repiquage, c'est-à-dire celles dont l'inoculum est constitué par des hyphes prélevées dans le front d'une culture contaminée, perdent pigmentation et zonation après 2 ou 3 mois et produisent des apothécies dépourvues d'asques (cf. infra).

Chez le mycélium contaminé la pigmentation est limitée aux parties frontales où la colonie bactérienne n'est pas apparente. Comme dans le cas du mycélium pur elle s'accompagne d'une zonation qui ne comporte pas plus de 3 à 5 bandes. Vers le 35ème jour de culture, parfois avant, des ébauches d'apothécies apparaissent à la surface de la culture, dans la zone claire, c'est-à-dire là où la colonie bactérienne est bien développée (Pl. I-2). Par la suite, après 2 ou même 3 mois de culture, la pigmentation et la zonation qui affectaient la zone frontale, disparaissent en même temps que naissent des apothécies (Pl. I-3).

Afin de déterminer les causes de la zonation certaines cultures ont été soumises à un éclairage continu à température constante, d'autres à l'obscurité totale mais avec les mêmes variations de température qu'entraînent le fonctionnement et l'arrêt des tubes fluorescents. Dans la première expérience la zonation est totalement absente des cultures qui sont cependant orangées, dans la seconde la zonation est présente mais non la pigmentation. Nous n'avons pu mesurer l'effet des alternances lumière/obscurité à température constante. Néanmoins il est évident qu'il s'agit là d'un cas banal de rythme exogène puisque les zona-

tions disparaissent lorsque les variations de température cessent. La croissance mycélienne est différente pour deux températures données (JEREBZOFF, 1961). Quant à la pigmentation, étant due à des caroténoïdes (cf. infra) elle est sous le contrôle de la lumière comme cela est le cas chez beaucoup de Champignons (RAU, 1976).

3. Étude de l'antagonisme.

Le champignon et la bactérie sont mis en présence dans des boîtes de Pétri de 90 mm en disposant les inoculums à 50 mm l'un de l'autre. Le mycélium s'étend beaucoup plus vite que la colonie bactérienne. Le rayon de la colonie fongique reste constant dans toutes les directions, même dans celle de la colonie bactérienne. Le taux d'inhibition est donc nul. Le champignon pénètre ensuite dans la colonie bactérienne. A partir de ce stade on constate que celle-ci s'accroît plus dans la direction de l'inoculum fongique que dans les autres. Ceci montre que les bactéries ne sont pas entraînées passivement par les hyphes en croissance, elles remontent vers les articles plus âgés, plus riches en réserves. La traversée de la colonie bactérienne provoque un faible retard dans la croissance mycélienne. Évalué en taux d'inhibition (formule de VAN DEN HEUVEL) il atteint 4,6 %. Au bout de 10 jours le champignon couvre toute la surface de la boîte de Pétri. Vers le 15ème jour toute la surface de la culture est recouverte par la colonie bactérienne. Après 2 mois de nombreuses apothécies apparaissent au niveau de l'inoculum bactérien (Pl. I-4).

On peut conclure de ces confrontations que la bactérie n'inhibe pas le champignon à distance et que la moindre croissance du champignon au niveau de la colonie bactérienne résulte soit de l'affrontement physique des deux organismes et d'une compétition pour la nutrition, soit de la production de substances antibiotiques non diffusibles dans le milieu. Enfin il est important de noter que la bactérie trouve dans la colonie fongique un milieu particulièrement favorable puisqu'elle remonte vers la base des hyphes et que finalement son développement est manifestement supérieur à celui qu'elle atteint lorsqu'elle est cultivée seule.

4. Étude microscopique des cultures, caractères cytologiques des hyphes, évolution.

Les coupes verticales radiales des cultures de 7 jours pures et contaminées montrent que le mycélium se développe à la surface et dans le substrat. Le mycélium aérien est totalement absent (Pl. II-5).

La zonation, bien apparente dans les cultures pures, est due à une alternance de bandes dans lesquelles les hyphes sont très denses, car très ramifiées, avec des bandes où les hyphes le sont moins (Pl. II-6).

La présence du *Pseudomonas* n'affecte pas la structure cytologique des hyphes jusque vers le 20ème jour. Les articles contiennent de nombreux globules lipidiques et d'importantes plages de glycogène (Pl. VI-16). Il s'en suit que le hyaloplasme est réduit à de fines travées (Pl. III-7) contenant peu de ribosomes

(Pl. VI-17). Les vacuoles qui restent de petite taille (1 µm) contiennent un dépôt très dense après l'acétate d'uranyle (polyphosphates) (Pl. VII-18) et une fine granulation après le protéinate d'argent (polysaccharides) (Pl. VII-20). La présence de polyphosphates dans les dépôts vacuolaires est confirmée par la métachromasie avec le bleu de toluidine à pH 1 (Pl. III-10). Tous les articles (Pl. III-7) ont la particularité de contenir une vingtaine de corps sphériques très chromophiles présentant les mêmes caractères que les corps de Woronin qui accompagnent les pores septaux : nature protéique (digestion par la pronase et la pepsine, coloration par l'amidoblack) structure fine identique (contenu dense, simple membrane limitante) (Pl. VII-18, 19).

Les différences apparaissent après la 3ème semaine :

– dans les cultures pures les hyphes superficielles régressent, les hyphes profondes deviennent très denses et leurs réserves augmentent. Il s'en suit que le cytoplasme se trouve concentré dans la partie centrale sous la forme d'un gros et long tractus contenant les noyaux, les granules métachromatiques et les corps protéiques (Pl. III-9).

– dans le mycélium contaminé par contre, les réserves n'augmentent pas. Certains articles se vident et meurent. Des chlamydospores apparaissent. Les bactéries fixées sur les parois des hyphes superficielles sont très nombreuses (Pl. III-8).

Par la suite ces phénomènes de nécrose dans les cultures contaminées vont s'accentuer. L'examen de coupes pratiquées dans une culture contaminée (Pl. IV-11) et dans une culture pure (Pl. IV-12) du même âge (1 mois) traitées par le tétroxyde d'osmium qui met en évidence les lipides insaturés, montre que les hyphes sont beaucoup plus denses dans la culture pure et, qu'en outre, de nombreuses hyphes sont vides dans la culture contaminée. A ce stade les bactéries sont nombreuses dans le voisinage des parois fongiques, elles sont liées aux fibrilles de la strate externe (Pl. VIII-21). Leur présence à l'intérieur des hyphes n'a été observée que dans les hyphes presque vides à paroi très amincie (Pl. VIII-22). C'est à ce moment que se forment les ascogones et les chlamydospores que nous avons déjà décrits (SCHRANTZ, 1980).

De tels phénomènes ne se produisent pas dans les cultures pures. La plupart d'entre elles restent stériles, seules celles issues d'un premier repiquage, c'est-à-dire celles dont l'inoculum est constitué par des hyphes prélevées dans le front d'une jeune culture contaminée, produisent des chlamydospores et des apothécies stériles. Ces fructifications sont morphologiquement normales, bien que de taille plus petite, mais leur hyménium ne contient que des paraphyses, les asques font toujours défaut (Pl. V-13). Leur développement débute de la même manière que celui des apothécies normales. Les ascogones bourgeonnent des boyaux d'où naissent quelques hyphes ascogènes (Pl. V-15) mais celles-ci n'évoluent pas et dégénèrent, si bien que dans les apothécies adultes on ne trouve aucune trace du sous-hyménium générateur d'asques qui existe dans les apothécies normales (Pl. V-14).

Cette production d'apothécies stériles par du mycélium pur, de même que la production d'apothécies normales par du mycélium contaminé, s'accompagnent

toujours de la disparition de la coloration orangée des cultures au profit des apothécies. Bien que la pigmentation des hyphes végétatives ne présente pas les réactions cytochimiques habituelles des caroténoïdes (coloration bleu intense avec l'acide sulfurique, coloration verte avec une solution iodo-iodurée) sa nature caroténoïdique ne fait aucun doute puisqu'après extraction par l'acétone, addition d'eau puis d'éther de pétrole, elle se révèle totalement épiphasique (ARPIN, 1968). On peut penser que les pigments des hyphes végétatives migrent dans les apothécies. Mais néanmoins il est probable que des modifications chimiques ou physico-chimiques se produisent à ce moment car les pigments des apothécies présentent les réactions classiques des caroténoïdes. En outre un rôle des caroténoïdes dans la reproduction sexuée pourrait être envisagé, nous en discuterons dans les conclusions.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'examen des courbes de croissance montre clairement que la croissance radiale est stimulée par la colonie bactérienne dans la phase initiale, lors du recouvrement de la surface du milieu. Par contre, la croissance pondérale est relativement inhibée puisque la masse de matière produite par les cultures contaminées est toujours sensiblement égale à la moitié de celle produite par les cultures pures.

Du point de vue macroscopique la présence du *Pseudomonas* entraîne la disparition de la zonation et de la pigmentation par les caroténoïdes qui se développent dans les cultures pures. Il permet la production de chlamydospores et d'apothécies fertiles (avec asques contenant des ascospores capables de germer) alors que la plupart des cultures pures restent stériles. Cependant lorsqu'il vient d'être séparé de la bactérie le mycélium pur est capable de produire des apothécies stériles (dépourvues d'asques).

Au point de vue cytologique on constate que les bactéries sont fixées aux fibrilles externes des parois fongiques. Elles ne pénètrent pas dans les hyphes vivantes, mais seulement dans les hyphes mortes. Le *Pseudomonas* paraît donc être un épiphyte du *Scutellinia*. Il entraîne la diminution des réserves des articles contaminés et la mort d'un nombre important d'entre eux alors que le mycélium pur accumule les réserves (lipides, glycogène). Ces observations montrent clairement que le *Pseudomonas* induit les reproductions sexuée et asexuée du *Scutellinia*, elles ne permettent pas néanmoins de connaître le mode d'action de cette bactérie. On ne peut pas en effet savoir si la diminution des réserves et la destruction partielle des hyphes sont les causes réelles du déclenchement des phénomènes de la reproduction ou seulement les conséquences, la bactéries provoquant une modification plus intime du métabolisme fongique. Dans cet ordre d'idée, la production d'apothécies stériles par du mycélium pur normalement développé peut faire penser que le déclenchement des phénomènes de reproduction n'est pas dû à la réduction du mycélium végétatif.

On peut aussi se demander pour quelles raisons les pigments caroténoïdes disparaissent du mycélium végétatif lorsque naissent les apothécies. Ils ont souvent été considérés comme des photorécepteurs chez les champignons dont la reproduction sexuée est photo-dépendante (CARLILE, 1970; LEACH, 1971). Plus récemment MOORE-LANDECKER (1981) qui a étudié l'action de la lumière sur le *Pyronema domesticum* ne voit aucune raison pour attribuer un tel rôle aux caroténoïdes. D'ailleurs actuellement d'autres substances telles les mycosporines sont considérées comme photorécepteurs dans le cas de certaines espèces (ARPIN & BOUILLANT, 1981). Selon HSIAO & MOLLER (1984) qui ont localisé des caroténoïdes sur les membranes mitochondriales du *Verticillium agaricinum*, ces pigments pourraient, en changeant les propriétés de ces membranes, modifier la respiration. Lorsque l'on sait qu'une stimulation du métabolisme oxydatif favorise la reproduction sexuée du *Leptosphaeria typhae* (VIALA & VIDAL, 1972) on peut envisager comme possible un rôle inhibiteur des caroténoïdes dans la reproduction du *Scutellinia* dans la mesure où une partie d'entre eux seraient liés aux mitochondries.

Du point de vue de la morphogenèse des apothécies ces observations sont intéressantes. Elles montrent que le système haploïde gamétophytique stérile (hyphes de la chair et paraphyses nées du pied de l'ascogone) est indépendant du système sporophytique dicaryotique issu de l'ascogone fécondé. En effet des apothécies stériles, mais macroscopiquement normales, peuvent s'édifier alors que le système ascogène ne se développe pas. Généralement l'initiation des deux systèmes est conditionnée par la formation et l'évolution des ascogones. On sait que chez de nombreux Discomycètes il y a apogamie (CHADEFAUD, 1960), les ascogones ne sont pas fécondés mais se comportent comme s'il l'avaient été et engendrent un appareil sporophytique dicaryotique. Nous n'avons pas étudié les phénomènes nucléaires dans les ascogones du *Scutellinia* mais la dégénérescence des hyphes ascogènes dans les apothécies stériles laisse penser que le déroulement normal des processus nucléaires est bloqué lors de l'appariement des noyaux complémentaires, bien avant la formation du crochet. La présence de la colonie bactérienne se révèle alors indispensable pour l'accomplissement de ces phénomènes. Finalement on peut considérer le *Pseudomonas* comme un antagoniste du *Scutellinia* comparable à certains champignons inducteurs d'organes sexués chez l'*Helminthosporium teres* étudiés par AL-ALI & al. (loc. cit.).

Nos observations ne permettent pas de savoir quelle est la véritable action du *Pseudomonas* sur le champignon puisque les métabolites bactériens n'ont pas été recherchés. Dans ce domaine les résultats sont fragmentaires et parfois contradictoires. Selon HAYES & al. (1969) le *Pseudomonas putida* favoriserait la fructification de l'*Agaricus bisporus* en permettant la capture des ions métalliques toxiques présents dans le milieu. Plus tard, WOOD (1976) n'a pas confirmé cette stimulation. Pour d'autres auteurs l'*Agaricus bisporus* utiliserait préférentiellement des polysaccharides bactériens (STANEK, 1972; EDDY & JACOBS, 1976). Le *Gaeumannomyces graminis* pousse mieux en présence de polysaccharides bactériens (LASIK & al., 1979).

Quoi qu'il en soit il est bon de rappeler que de nombreuses espèces du genre *Pseudomonas*, qui colonisent facilement les racines sont considérées comme bénéfiques pour les plantes (plant growth-promoting rhizobacteria de SCHROTH & HANCOCK, 1982). Cette action n'a pas reçu d'explication. Les *Pseudomonas* produiraient un grand nombre de métabolites secondaires, d'acides aminés rares et de peptides dont le rôle n'est pas connu. C'est en identifiant ces substances que l'on pourra mieux comprendre la nature de ces interactions entre les microorganismes du sol.

BIBLIOGRAPHIE

AL-ALI B., BARRAULT G. et ALBERTINI L., 1979 – Action *in vitro* d'antagonistes fongiques et bactériens sur la croissance mycélienne de l'*Helminthosporium teres* Sacc. parasite de l'Orge. *Bull. Soc. Mycol. France* 95 : 279-295.

ARPIN N., 1968 – Recherches chimiotaxinomiques sur les champignons. XI. Nature et distribution des caroténoïdes chez les Discomycètes operculés (*Sarcoscyphaceae* exclues); conséquences taxinomiques. *Bull. Soc. Mycol. France* 83 : 427-474.

ARPIN N. and BOUILLANT M.L., 1981 – Light and mycosporines. *In* : TURIAN & HOHL, *The fungal spore : morphogenetic controls*. Academic Press : 435-454.

ASTHANA R.P. and HAWKER L.E., 1936 – The influence of certain fungi on the sporulation of *Melanospora destruens* Shear, and of some other Ascomycetes. *Ann. Bot. (London)* 50 : 325-344.

BENES K. and KAMINEK M., 1973 – The [redacted] of nuclear Fast Red in Plant material successively with Alcian Blue. *Biol. Pl.* 15 : 294-297.

BERTHET P., 1964 – Essai biotaxinomique sur les Discomycètes. Thèse Doct. d'État, Lyon.

BRUMMELEN J. van, 1967 – A world-monograph of the genera *Ascobolus* and *Saccobolus* (Ascomycetes, Pezizales). *Persoonia*, suppl. vol. 1 : 1-253.

CARLILE M.J., 1970 – The photoresponses of fungi. *In* : J. WILEY, *Photobiology of microorganisms*. New York, Per Halldal : 309-344.

CHADEFAUD M., 1960 – Les végétaux non vasculaires (Cryptogamie). *In* : M. CHADEFAUD & L. EMBERGER, *Traité de Botanique systématique*. Paris, Masson, I, 1018 p.

EDDY B.P. and JACOBS L., 1976 – Mushroom compost a nutrient source for *Agaricus bisporus*. *Mushroom J.* 38 : 56.

FISHER D.B., 1968 – Protein staining of ribboned epon sections for light microscopie. *Histochemie* 16 : 92-96.

HAYES W.A., RANDLE P.E. and LAST F.T., 1969 – The nature of the microbial stimulus affecting sporophore formation in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *Ann. Appl. Biol.* 64 : 177-187.

HSIAO K.C. and MOLLER I.M., 1984 – The subcellular distribution of carotenoids in light-grown *Verticillium agaricinum*. *Physiol. Pl.* 62 : 167-174.

JEREBZOFF S., 1961 – Étude de phénomènes périodiques provoqués par des facteurs physiques et chimiques chez quelques champignons. Thèse Doct. d'État, Toulouse.

LANGERON M., 1949 – *Précis de microscopie*. Paris, Masson, 1430 p.

LASIK J., STANEK M., VANCURA V. and WURST M., 1979 — Effect of bacterial polysaccharides on the growth of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and wheat roots. *Folia Microbiol. (Prague)* 24 : 262-268.

LEACH C.M., 1971 — A practical guide to the effects of visible and ultraviolet light on fungi. *In* : C. BOOTH, *Methods in microbiology.* New York, Academic Press : 609-664.

LE GAL M., 1966 — Contribution à la connaissance du genre *Scutellinia* (Cooke) Lamb. *emend.* LE GAL (1ère étude). *Bull. Soc. Mycol. France* 82 : 301-334.

LE GAL M., 1968 — Contribution à la connaissance du genre *Scutellinia* (Cooke) Lamb. *emend.* LE GAL (2ème étude). *Bull. Soc. Mycol. France* 84 : 375-380.

LE GAL M., 1971 — Contribution à la connaissance du genre *Scutellinia* (Cooke) Lamb. *emend.* LE GAL (3ème étude). *Bull. Soc. Mycol. France* 87 : 433-440.

McCORMICK F.A., 1925 — Perithecia of *Thielavia basicola* Zopf. in culture and the stimulation of their production by extracts from other fungi. *Bull. Connecticut Agric. Exp. Sta.* 269 : 539-554.

MOLLIARD M., 1903 — Rôle des bactéries dans la production des périthèces des *Ascobolus. Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 136 : 899-901.

MOORE-LANDECKER E., 1981 — Histochemical observations on apothecia, permanently vegetative hyphae, and sclerotia of *Pyronema domesticum* with special reference to light. *Canad. J. Bot.* 59 : 1726-1737.

PARK J.Y. and AGNIHORTI V.P., 1969 — Sporophore production of *Agaricus bisporus* in aseptic environments. *Antonie van Leeuwenhoek Ned. Tijdschr. Hyg.* 35 : 523-528.

RAU N., 1976 — Photoregulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Pure Appl. Chem.* 47 : 237-243.

SARTORY A., 1916 — De l'influence d'une bactérie sur la production des périthèces chez un *Aspergillus. Compt. Rend. Hebd. Séances Mém. Soc. Biol.* 79 : 174-175.

SARTORY A., 1918 — Sporulation par symbiose chez des champignons inférieurs. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.* 167 : 302-305.

SCHRANTZ J.P., 1980 — Fructification d'un *Scutellinia* (Discomycète) en culture *in vitro*, en présence de bactéries. *Cryptogamie, Mycol.* 1 : 241-250.

SCHROTH M.N. and HANCOCK J.G., 1982 — Disease suppressive soil and rootcolonizing bacteria. *Science* 216 : 1376-1381.

SPURR A.R., 1969 — A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26 : 31-43.

STANEK M., 1972 — Microorganisms inhabiting mushroom compost during fermentation. *Mushroom Science* 8 : 797.

THIERY J.P., 1967 — Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. *J. Microscop.* 6 : 987-1018.

VENABLE J.H. and COGGESHALL R., 1965 — A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 25 : 407-408.

VIALA G. and VIDAL G., 1972 — Reproduction sexuée, croissance et métabolisme intermédiaire chez le *Leptosphaeria typhae. Physiol. Vég.* 10 : 481-494.

WIAME J.M., 1949 — The occurrence and physiological behaviour of two metaphosphate fractions in yeast. *J. Biol. Chem.* 178 : 919-924.

WILSON E.E., 1927 — Effects of fungus extracts upon the initiation and growth of perithecia of *Venturia inaequalis* in pure culture. *Phytopathology* 17 : 835-836.

WOOD D.A., 1976 — Primordium formation in axenic cultures of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. *J. Gen. Microbiol.* 95 : 313-323.

EXPLICATIONS DES PLANCHES

Planche I – Macrophotos de cultures.

1 – Culture de mycélium pur âgée de 45 jours. La zonation est apparente sur toute la surface.

2 – Culture de mycélium contaminé par *Pseudomonas* âgée de 45 jours. La zonation est légèrement perceptible dans la partie frontale. Des apothécies sont présentes au niveau de la colonie bactérienne où la zonation est absente.

3 – Culture de mycélium contaminé par *Pseudomonas* âgée de 60 jours. La zonation a complètement disparu. Des apothécies sont présentes sur toute la surface.

4 – Confrontation entre le mycélium pur (à gauche) et le *Pseudomonas* (à droite). De nombreuses apothécies se sont formées au niveau de la colonie bactérienne.

Plate I – Macrophotos of cultures.

1 – Culture of pure mycelium 45 days old. Zonation appears on the whole surface.

2 – Culture of mycelium contaminated by *Pseudomonas* 45 days old. Zonation is perceptible only in front. Apothecia are present on level with the bacterial colony where zonation [redacted] absent.

3 – Culture of mycelium contaminated only by *Pseudomonas* 60 days old. Zonation have entirely disappeared. Apothecia are present on the whole surface.

4 – Confrontation between the pure mycelium (on the left) and *Pseudomonas* (on the right). Numerous apothecia are formed on level with the bacterial colony.

Planche II – Micrographies optiques.

5 – Coupe radiale d'une culture de mycélium contaminé âgée de 15 jours. Les hyphes se développent à la surface, mais surtout dans le substrat. Le mycélium aérien est absent. Bleu de toluidine pH 6,5.

6 – Coupe radiale d'une culture zonée de mycélium pur âgée de 15 jours, montrant les hyphes densément ramifiées à gauche, peu ramifiées au centre. Bleu de toluidine pH 6,5.

Plate II – Optic micrographies.

5 – Radial section through a culture of contaminated mycelium 15 days old. Hyphae are growing to the surface but principally inside the medium. Aerial hyphae fail. Toluidine blue pH 6,5.

[redacted] – Radial section through a zonate culture of pure mycelium 15 days old, showing densely branched mycelia on the left and less-branched hyphae in the middle. Toluidine blue pH 6,5.

Planche III – Micrographies optiques.

7 – Hyphes d'une culture contaminée montrant les fines travées cytoplasmiques, les noyaux (N) et les corps de Woronin (W) libres ou contre les septums. Les lipides et le glycogène ne sont pas conservés. Bleu alcian/nuclear fast red.

8 – Hyphes d'une culture contaminée âgée de 30 jours. Les bactéries sont très abondantes contre les parois du champignon. Noir Soudan.

9 – Hyphe d'une culture pure âgée de 30 jours. Le cytoplasme est concentré au centre de la cellule. Bleu alcian/nuclear fast red.

10 – Mise en évidence des granules métachromatiques (polyphosphates) dans une hyphe d'une culture pure. Bleu de toluidine pH 4,4 + HCl 0,1 M.

Plate III – Optic micrographies.

7 – Hyphae of a contaminated culture showing fine cytoplasmic bays, nuclei (N) and Woronin bodies (W) along the septum (some are free in the cytoplasm). Lipids and glycogen are not preserved. Alcian blue/nuclear fast red.

8 – Hyphae of a contaminated culture 30 days old. Bacteria are very numerous on hyphal walls.

9 – Hypha of a pure culture 30 days old. Cytoplasm is concentrated in the centre of the cell. Alcian blue/ nuclear fast red.

10 – Hypha of a pure culture stained for metachromatic granules (polyphosphate). Toluidine blue pH 4,4 + HCl 0,1 M.

Planche IV – Micrographies optiques.

11 – Coupe radiale dans une culture de mycélium contaminé, âgée de 30 jours. Les hyphes vides sont nombreuses, OsO_4 + bleu alcian.

12 – Coupe radiale dans une culture de mycélium pur âgée de 30 jours. Les hyphes vivantes sont très denses. OsO_4 + bleu alcian.

Plate IV – Optic micrographies.

11 – Radial section through a culture of contaminated mycelium, 30 days old. Empty hyphae are numerous. OsO_4 + alcian blue.

12 – Radial section through a culture of pure mycelium, 30 days old. Living hyphae are very dense. OsO_4 + alcian blue.

Planche V – Micrographies optiques.

13 – Coupe longitudinale dans une apothécie stérile produite par une culture pure. L'hyménium ne contient que des paraphyses. Bleu alcian / nuclear fast red.

14 – Coupe longitudinale dans une apothécie fertile produite par une culture contaminée. L'hyménium contient des paraphyses et des asques octosporés. Bleu alcian/ nuclear fast red.

15 – Coupe longitudinale dans une très jeune apothécie produite par une culture pure et montrant les cellules ascogoniales (As) et les hyphes ascogènes (Ha). Bleu alcian/ nuclear fast red.

Plate V – Optic micrographies.

13 – Longitudinal section of a sterile apothecium produced by a pure culture. Hymenium includes only paraphyses. Alcian blue/ nuclear fast red.

14 – Longitudinal section of a fertile apothecium produced by a contaminated culture. Hymenium includes paraphyses and octospored asci. Alcian blue / nuclear fast red.

15 – Longitudinal section of a very young apothecium produced by a pure culture and showing cells of ascogonium (As) and ascogenous hyphae (Ha). Alcian blue/ nuclear fast red.

Planche VI – Micrographies électroniques.

16 – Coupe d'une hyphe d'une culture pure âgée de 9 jours. Les globules lipidiques (L) et le glycogène (G) sont abondants. Technique de Thiéry.

17 – Hyphe semblable mais contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Les ribosomes (R) sont rares. Le glycogène est dissous.

Plate VI – Electronic micrographies.

16 – Section of a hypha of a pure culture 9 days old. Lipid globules (L) and glycogenic granules (G) are numerous. Technique of Thiéry.

17 – Similar hypha but contrasted with uranyl acetate and with lead citrate. Ribosomes (R) are scarce. Glycogen is dissolved.

Planche VII – Micrographies électroniques.

18 – Coupe dans une hyphe d'une culture pure âgée de 30 jours, contrastée par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb. Les vacuoles contiennent une grosse inclusion opaque aux électrons (P). Un corps de Woronin libre (W), semblable à ceux des septums, est présent.

19 – Coupe au niveau d'un septum montrant la structure des corps de Woronin. Acétate d'uranyle et citrate de plomb.

20 – Coupe dans une hyphe d'une culture pure âgée de 20 jours (technique de Thiéry). Le contenu des vacuoles est marqué par le protéinate d'argent.

Plate VII – Electronic micrographies.

18 – Section of a hypha of a pure culture 30 days old, contrasted with uranyl acetate and with lead citrate. Vacuoles include ■ large electron-dense inclusion (P). A free Woronin body (W), similar to those of septae, is present.

19 – Section through a septum showing the structure of Woronin bodies. Uranyl acetate and lead citrate.

20 – Section of a hypha of a pure culture 20 days old (Technique of Thiéry). Reaction product is deposited over the inclusion of vacuoles.

Planche VIII – Micrographies électroniques.

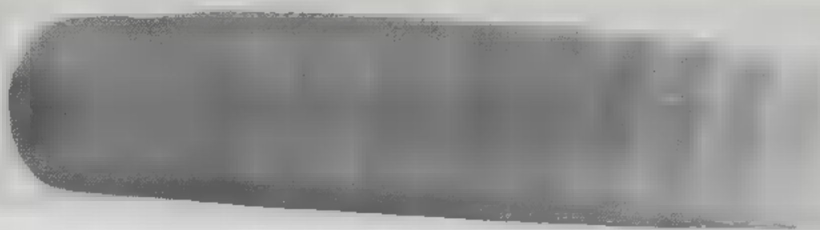
21 – Coupe montrant la liaison des *Pseudomonas* à la paroi des hyphes. Acétate d'uranyle, citrate de plomb.

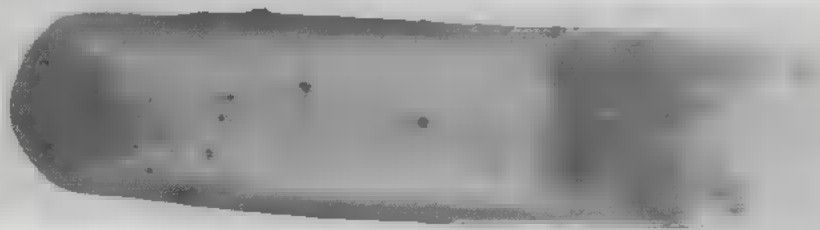
22 – Coupe montrant des bactéries à l'intérieur d'une hyphe morte, (P = paroi du champignon). Acétate d'uranyle, citrate de plomb.

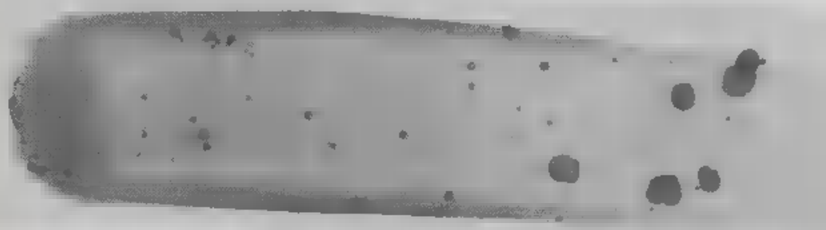
Plate VIII – Electronic micrographies.

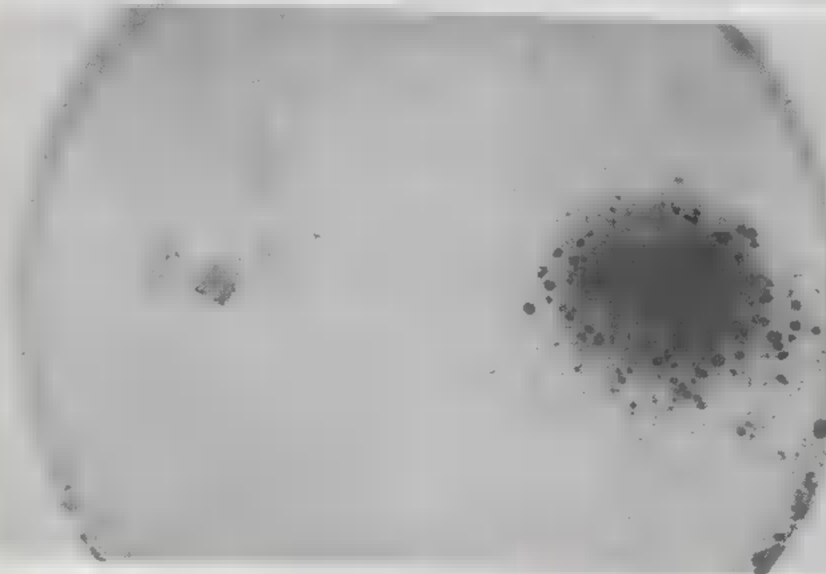
21 – Section showing *Pseudomonas* fixed at the wall of hyphae. Uranyl acetate, lead citrate.

22 – Section showing bacteria inside a dead hypha (P = hyphal wall). Uranyl acetate, lead citrate.

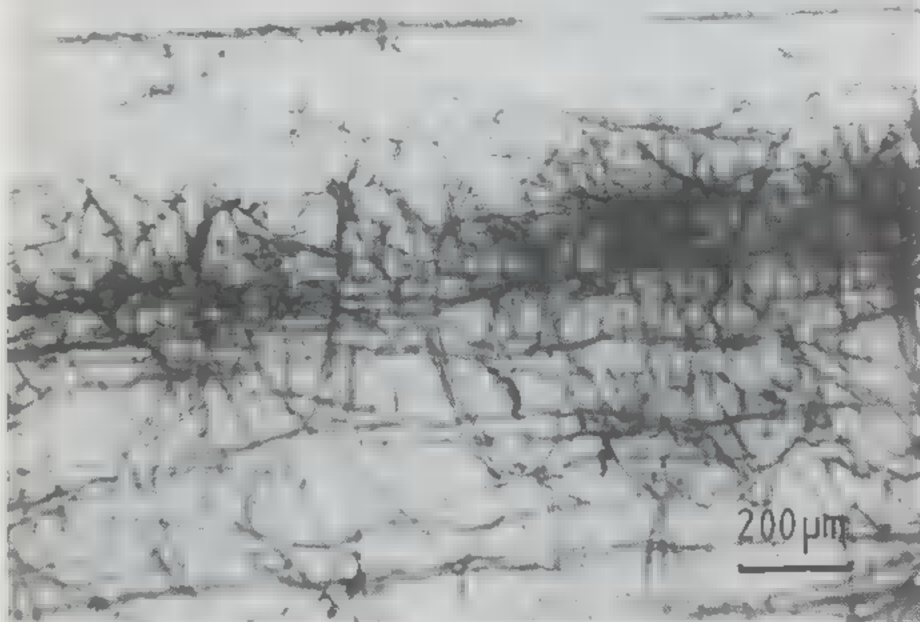


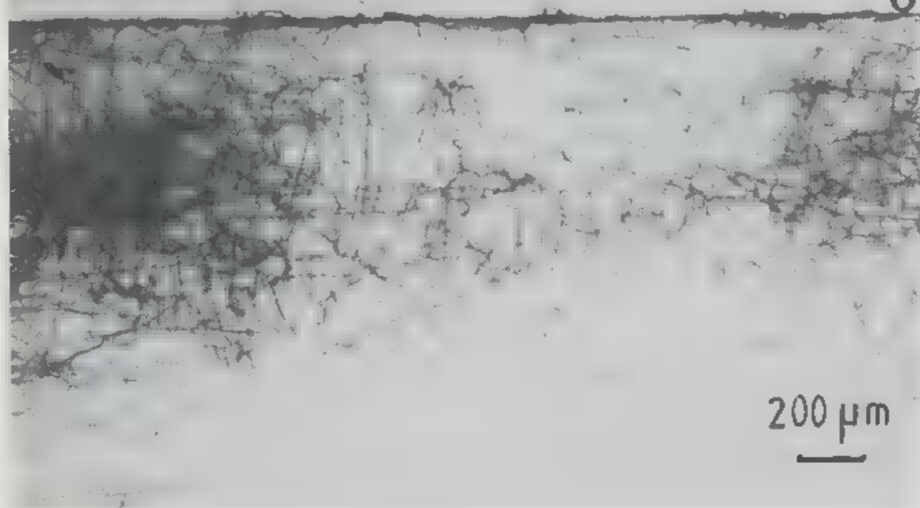


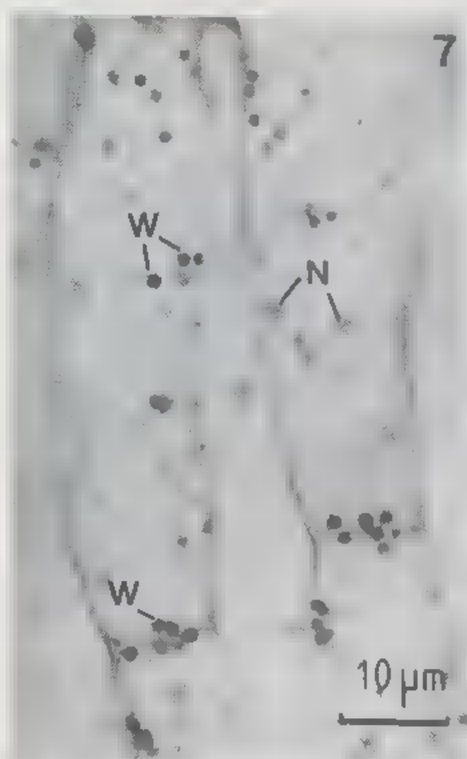


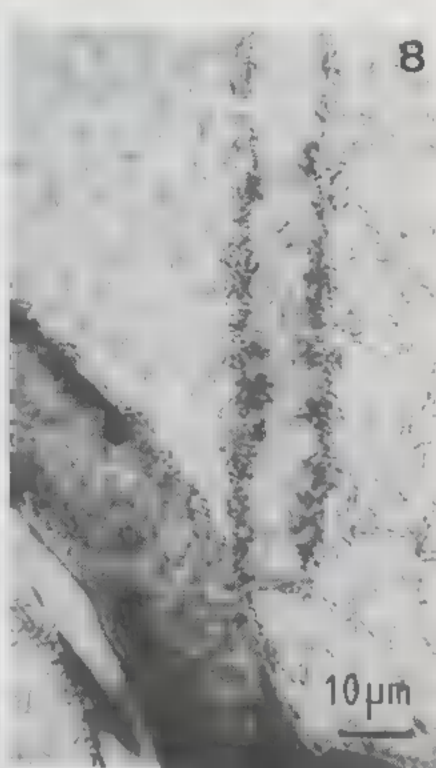


Source : MNHN, Paris

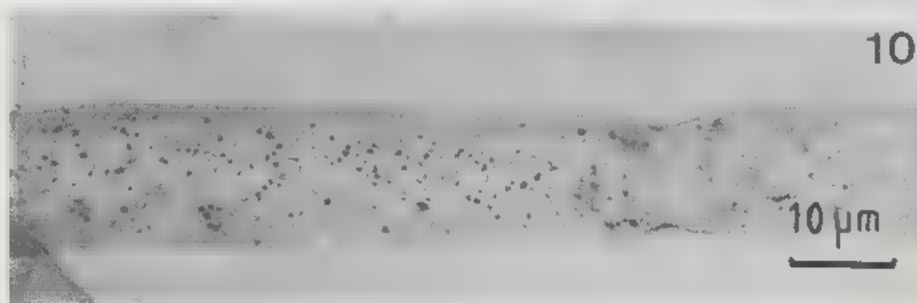

5
200 µm

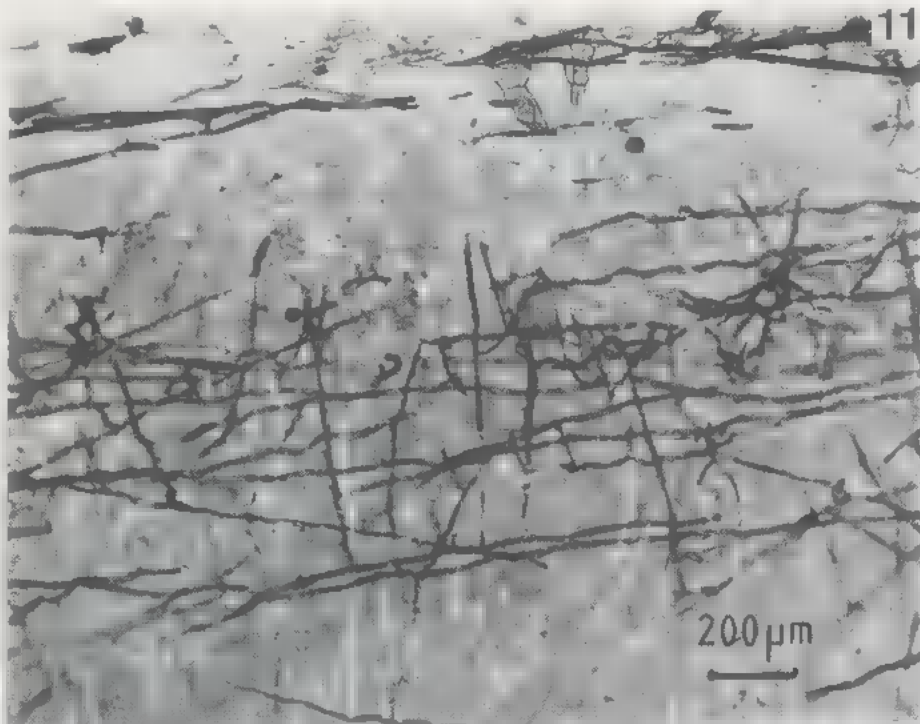

6
200 µm

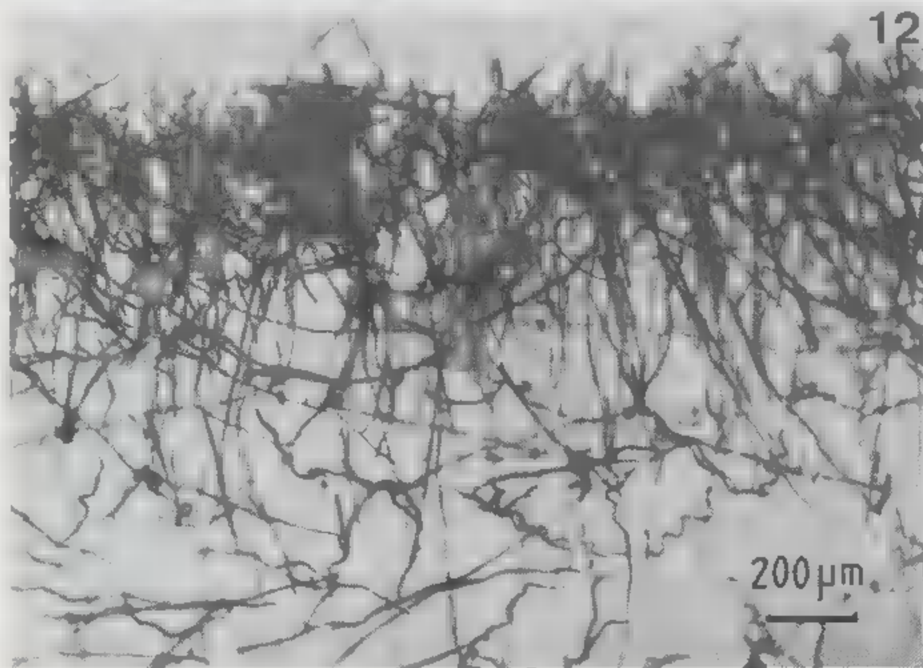

7
W
N
W
10 µm

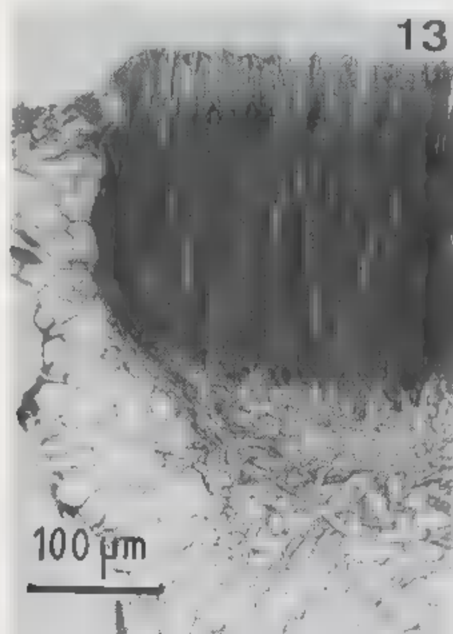

8
10 µm

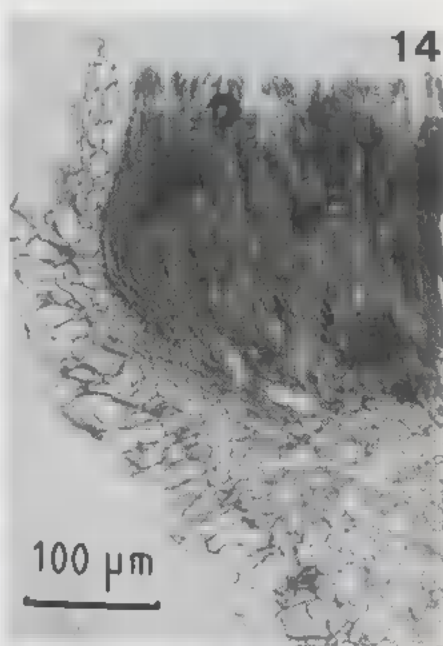

9
10 µm

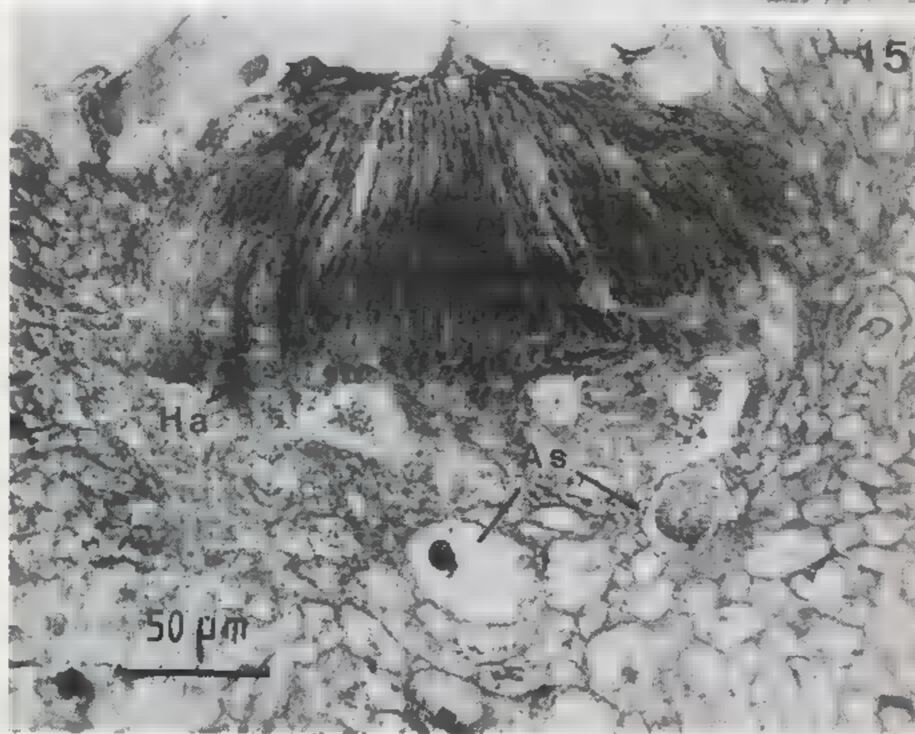

10
10 µm

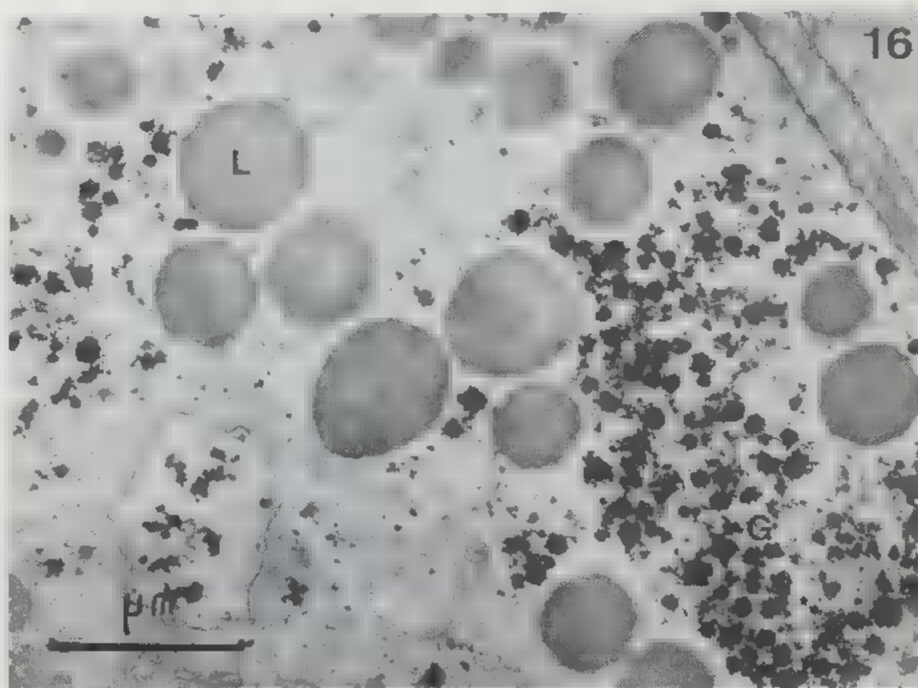

11
200 µm

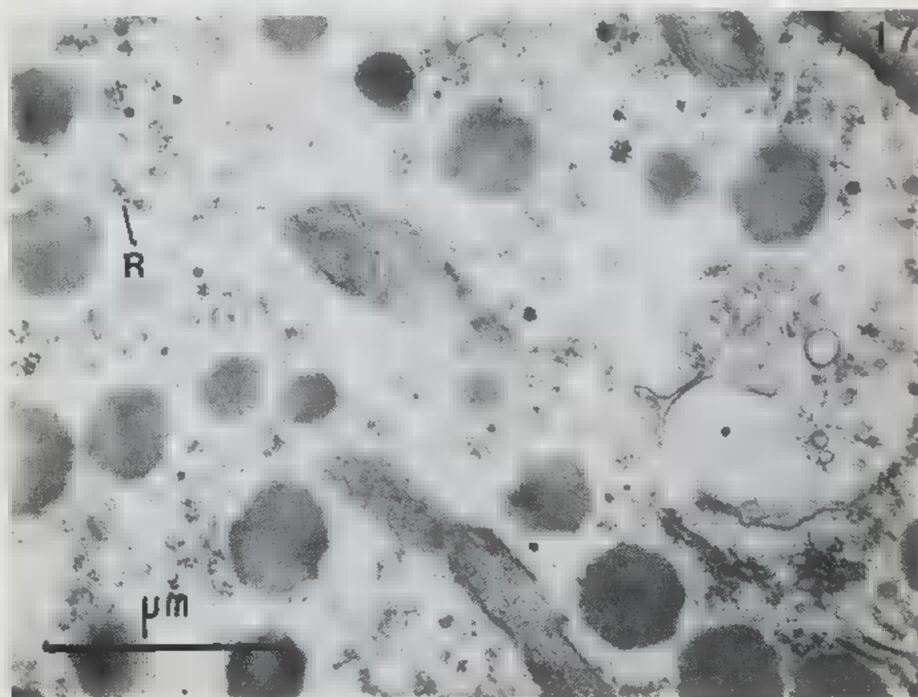

12
200 µm

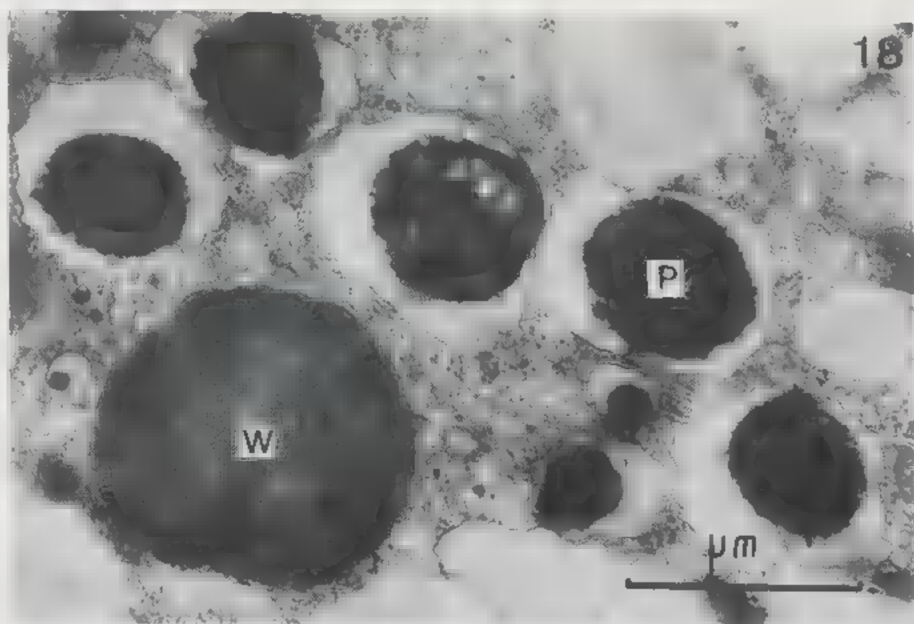

13
100 µm


14
100 µm

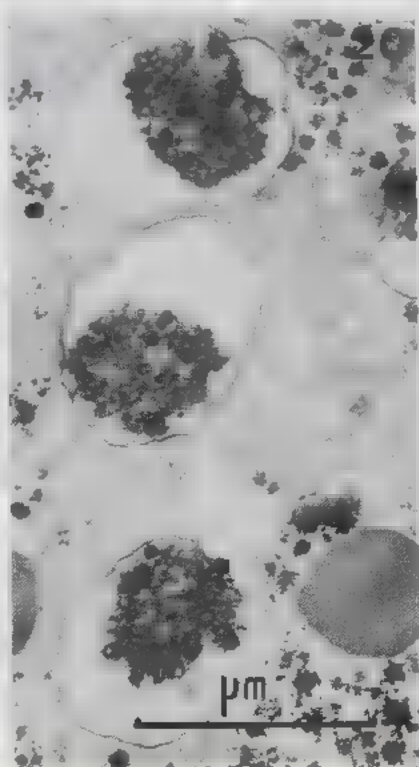

15
Ha
As
50 µm


16
L
G
µm

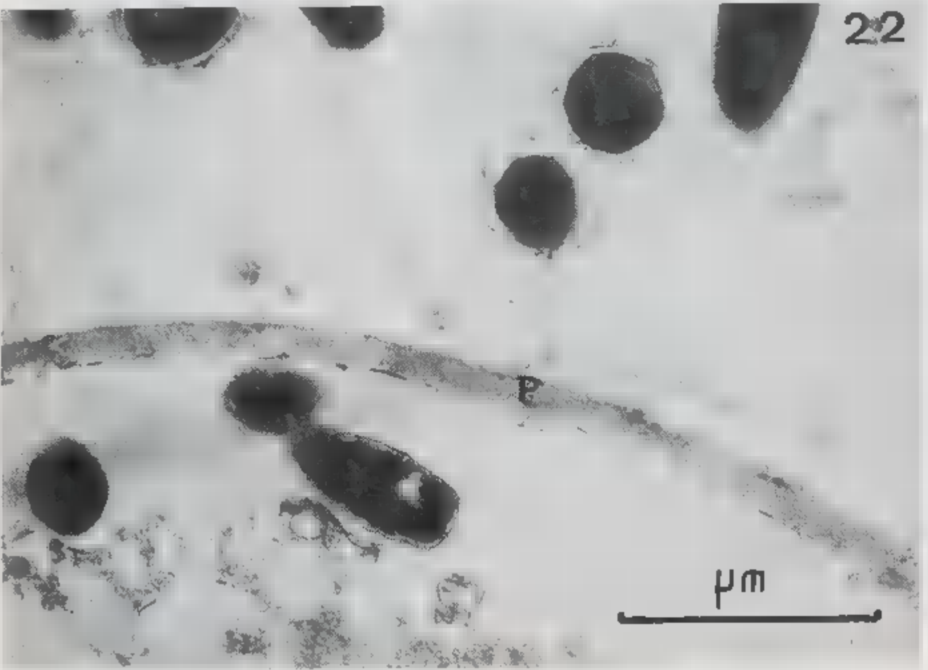

17
R
µm


18
P
W
μm


W
μm


μm


21
P
µm


22
P
µm

Cryptogamie, Mycol. 1986, 7 (2) : 181-187

SPECIES CONCEPT IN *PENICILLIUM* BASED ON MORPHOLOGICAL CHARACTERS

by Carlos RAMIREZ*

SUMMARY. — A recommendation that morphological characters should be employed in the first instance when identifying species of *Penicillium* is presented here. This of itself demands the greatest care in valuating criteria, particularly assuming their range of variation. Morphological criteria may be selected from all stages of the life cycle of the fungus. Their value in the definition of the species will depend upon their constancy and upon the accuracy with which they can be described in qualitative and quantitative terms. The definition of a *Penicillium* species will depend upon the valuation of the sum of their morphological characteristics and upon the recognition of valid levels of differences in criteria selected as definitive. Criteria should show sufficient degrees of differences and possess a considerable measure of constancy to allow effective separation of species. The ranges of variation within the criterion should be known. Ideally, criteria should be obtained from the whole body structures of individuals but because of the complexity, and actual gaps of many life cycles, this is not always possible.

RÉSUMÉ. — L'auteur recommande l'emploi prioritaire des caractères morphologiques lors de l'identification des espèces de *Penicillium*. Ceci requiert le plus grand soin dans l'évaluation des critères, spécialement en précisant leur degré de variation. Les critères morphologiques peuvent être choisis parmi toutes les phases du cycle biologique du champignon. Leur valeur dans la définition d'une espèce dépend de leur stabilité et de l'exactitude avec laquelle ils peuvent être décrits en termes tant qualitatifs que quantitatifs. La définition d'une espèce de *Penicillium* dépendra donc de l'évaluation de la totalité de ses caractères morphologiques et de la reconnaissance des niveaux de validité des différences entre les critères choisis comme définitifs. Ces critères devront montrer des degrés de différence suffisants et présenter un grand degré de constance afin de permettre une séparation réelle des espèces. Mais la complexité et les lacunes existant dans nombre de cycles biologiques, ne permettent pas toujours de parvenir à ce but.

KEY WORDS : *Penicillium*, species concept, morphology.

Charles DARWIN (1859) wrote in his «Origin of species»... : «I look at the term species as one arbitrarily given for the sake of convenience to set of individuals closely resembling each other».

* Laboratory of General and Applied Mycology, Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología, C.S.I.C., Joaquín Costa 32, 28006 Madrid, Spain.

Similarly, some taxonomists regard species as arbitrarily defined, artificial categories, without existence in nature; but other taxonomists believe that species have an objective reality; that organisms are not abstract species. Instead, with the help of morphological methods, there have been demonstrated completely real groups or organisms, differing between themselves within the limits of each genus by conditions of life (the habitat occupied by them) and also according to the totality of their specific adaptation to these conditions.

It is well known that when a group of organisms reproduces sexually, those classified as belonging to the same species can usually interbreed and produce fully fertile offspring; but those assigned to different species either cannot be cross at all or, if they can, produce infertile offspring such as the case of mules, for example. These observations have led to the notion that interfertility can be a test of whether two individuals belong to the same species, thence the definition of species by MAYR (1965) «as a group of actually of potentially interbreeding natural populations, which are reproductively isolated from other such groups».

Now, what constitutes a species of *Penicillium* ? No answer will satisfy all requirements. The species concept in fungi is a very delicate problem. This is certainly to a large extent due to a very limited use of general characters to test the stability of the morphological criteria employed. That these criteria should be morphological for the vast majority of fungi cannot be disputed. From the standpoint of the mycologists, two or more organisms may be regarded as belonging to the same species if they have the same morphology, including both cultural and microscopical characteristics. However, it must never be forgotten that the morphology of an individual is the ultimate expression of its growth processes, the final display of all its complex relationships with its normal habitat.

Taxonomy is fundamental to all branches of biology that are condensed by sound «natural» classification of the nature of the organisms to be classified and on detailed knowledge of their morphology, physiology, life history, and ecology. Classifications, therefore, develop towards greater stability and become more informative as knowledge of any particular group of organisms deepens.

The modern taxonomic approach in mycology has constantly emphasized the importance of developmental criteria and the necessity of discovering the basic genotypic characteristics of the individual, recognizing that the kinds of substrate on which the fungus grows and the habitat conditions to which it is exposed result in different phenotypic expressions of the genotype. Emphasis has been placed on a search for these criteria less subject to pressures arising from differences in substrate or habitat. But the definition of valid taxa must take into account as wide a range of criteria as possible and the valuation of the degree of variation which may be expected of each criterion.

In nature, the majority of fungi, with the exception of obligate parasites, live in communities of organisms exposed to competition pressures which of necessity have a limited effect upon the degree of expression of their genotypic potentialities. For those fungi easily cultivated on laboratory media, which is

the case of *Penicillia*, freedom from competition pressures allows the individual to express other aspects of its genotype, to display different morphological criteria or at least different degrees of already recognized criteria. This of itself demands of the taxonomist who must attempt to define the species from laboratory cultures the greatest care in valuating criteria, particularly with respect to assessing their range of variation : an agar medium not only differs from the majority of natural substrates in chemical composition, but also possesses entirely different physical properties. But these criteria cannot stand alone ■ the control of taxa, particularly at the specific level; where possible they should be referred to a final court of appeal before a name is assigned, to the authentic herbarium material lodged by the author of a species name. Equally for the new species, published descriptions, illustrations, and measurements should be supplemented by dried specimens lodged in permanent herbaria. Live cultures of *Penicillium* properly named, have their uses as references, but a fungus relieved of the pressures of its native habitat often becomes attenuated, partly because of the unnatural conditions of pure cultures, partly because of its intrinsic variability, and partly because of the hazards of transfer techniques.

Morphological criteria may be selected from all stages of the life cycle of the fungus. Their value in the definition of the species depends upon their constancy and upon the accuracy with which they can be described in qualitative and quantitative terms. If a fungus can be cultivated on laboratory media, the morphology of its mycelium, its branching, the degree of constancy of septation, and measurement of hyphal width, can all be obtained with precision and are valid for that individual medium at that time. They are valuable so long as it is realized that they refer to a particular individual under ■ defined set of culture conditions and their value increases with the accuracy of definition of these conditions and with comparative studies of their constancy under related conditions for the same individual and for closely related individuals.

The definition of *Penicillium* species depends upon the valuation of the sum of their morphological characteristics and upon the recognition of valid levels of differences in criteria selected as definitive. Not all criteria are of equal value at the same level of taxonomic separation. Spore producing members and the stage of development through which they pass, and the spores which they bear, are more constant than many of the characteristics of the mycelium that produced them.

The important requirements demanded of morphological criteria for taxonomic purposes may be stated as follows :

1) Criteria should show sufficient degrees of differences and possess a considerable measure of constancy to allow effective separation of species.

2) Ranges of variation within a criterion should be known.

3) Within limits, each criterion should be capable of being observed accurately.

Ideally, criteria should be obtained from the whole body structures of individuals but, because of the complexity and actual gaps of many life cycles, this

is not always possible.

While mycologists faced with the identification of fungi must applaud the increase in morphological data that can be used to separate species, they must be constantly aware of the frustrations implicit in much of this knowledge.

Taxonomy of living organisms cannot remain static as the limits of knowledge continually expand, but the very rate of expansion brings problems in its wake because much of the knowledge concerns individuals and can be accounted of real value only when the volume of it allows generalization on a sound firm basis.

It is customary to select morphological criteria from consideration of the several distinctive features of individuals. For *Penicillium* species this should involve a consideration of the structure of the conidiophore and its several parts of the way in which it reaches its mature form. It must also involve the consideration of any sporing structure which the conidiophores produces, their development and final anatomical structure, and the origin and morphology of the spores which they carry. While the conidiophore can show marked changes in relation to the environment, sporing structures remain remarkably constant for every individual included in a single species concept. The criteria derived from the morphology of the spore producing members constitute, thus the major factor for the separation of *Penicillium* species.

Where an individual can be cultivated on laboratory media, the difficulties inherent in the close relationship of the mycelial hyphae with the natural substrate are avoided and hyphal morphology can be examined on and in the mycelium. But the value of mycelial data requires careful scrutiny, not only with respect to its precise taxonomic status but also with respect to the degree of accuracy with which such information can be communicated to other investigators.

While it is possible to relate mycelial colour and any pigment changes produced in the culture media to standard colour charts, it is not always possible to ensure that two observers match colour values with the same degree of accuracy. When it comes to the description of the gross appearance of the colony, difficulties are magnified because of a lack of precise terms to describe the form and colour of colony, hence the use of colour photographs by myself in my identifications. The advent of colour photography spread a ray of hope, although the cost of reproduction has proved prohibitive. However, colour reproductions have much to recommend them as worthy of confidence where differences in gross colony characters are really essential for a definition of a species.

By contrast, measurements of hyphal diameters, degree of branching, angles of divergence of branches, and intervals between primary branches and secondary ones may be combined with the information on the constancy and degree of septation, the occurrence of particular cell shapes, and all can be accurately recorded and illustrated. Insofar as mycelium is concerned, it is the detail of its component parts which is more important than the gross characters of the whole, but even these criteria must be used with care and their use must be accompanied by detailed facts about the conditions under which they were observed.

One of the great difficulties in tracing the borderlines between species closely related is the variability of *Penicillium* species, derived from the incredible capacity of the genetic endowment to generate random variations which are either conserved or eliminated under the selective pressures imposed by the environment.

The *Penicillia* indeed represent an unusually variable group of moulds, and actually, no mycologist needs to be told that any species of fungus is highly variable. Polygenic systems are rather prominent as a major basis for variability, and this is to be expected in haploid organisms lacking a diploid basis of heterosis. Although successful taxonomy and nomenclature must be based upon strains considered to be «normal», the mycologist must recognize that variations and mutations often occur. In laboratory cultures, these usually arise in one or two ways. They may develop as a result of progressive change under continued laboratory cultivation and appear as sectors or areas of altered colouration, colony texture, or rate or habit of growth. On the other hand, they may appear as limited sectors or areas showing an abrupt change in some conspicuous characters such as colour of ripe conidia or an inability to develop normal conidial structures upon the substratum employed. The latter type of change commonly remains stable through subsequent recultivation, hence may be regarded as a true mutation; the former type often continues to show further change in the same or in some other direction, hence is usually regarded as representing a sort of step in a process of progressive variation. Strains believed to represent both types of development may be isolated from natural sources. If reason exist for believing them to represent merely different aspects assumed by a common and cosmopolitan species, such variations or mutations are usually not accorded taxonomic status.

Culture appearance and morphology must then be expected to vary within certain range, governed by limits established for the species, and these limits should represent the product of observation, experience, and good judgement. In any elaborate study of a particular species, the range of variation in structure is important.

SPECIES DEFINITION

A definition of species, the unit of classification, is hard to find. As a matter of fact, definitions will inevitably vary with individual opinion.

COWAN (1965) defined Taxonomy as composed of three parts :

1) Classification,
2) Nomenclature, and
3) Identification of the unknown.

Nomenclature, which is the least important part, has its Code and Rules, whereas classification, the most important part of Taxonomy has nothing.

In my opinion, a definition of microbial species that was first published by GORDON & MIHN (1962) could be a good starting point to reach an agreement

on a definition of species. Currently the definition is as follows :

«A microbial species is a concept represented by a group of strains from a variety of sources, or by a population of strains, that contain freshly isolated strains, stock strains maintained in collections for varying periods of time, and their variants (strains not identical with their parents in all characteristics) which have in common a set of correlating stable properties that separate the group from the other groups of strains».

To delineate a species according to this definition, therefore one must study strains from a variety of sources and include newly isolated strains, old stock strains, and as many as their variants as possible; select the characteristics these strains have in common for describing the species they represent; and stress the similarities of all these strains, not their differences.

Now we ask : why include old stock strain ?

1) Our nomenclature is tied to old strains or to strains that are rapidly getting older because the first or one of the first strains given a new species name by an author becomes the nomenclatural type strain of the species. The nomenclatural type strain must always belong to the species and be recognizable from the species description. In applying new tests and observations that result in the emendation of a species description, therefore one must include the nomenclatural type strain.

2) The old stock strains are also important in taxonomy because they represent the history of taxonomy of the work of a taxonomist who preceded us, and history forms an important part of every branch of knowledge and experience.

3) The most important reason, however, for including old strains in the taxonomic study of a species is the relative stability of their characteristics as compared with those of the characteristics of newly isolated strains.

Fungal strains possess many properties of varying degrees of stability. In our own experience, characteristics that persist after years of cultivation in test tubes are the most stable characteristics.

Why are variants (adapted strains and mutants) incluede in the present definition ?

Variants, developed in nature or in the laboratory, are part of a population of strains, and because they are there, they have as much right to a species name as the nomenclatural type or the newest isolate from nature. Variants as well as old strains, can contribute to the determination of the more stable properties of the species. The selection of properties common to new isolates, old strains, and their variants will result in a more reliable description of the species.

Fungal variation and the spectrum-like relationship of the strains have to be kept in mind as two of the facts of life. We can compensate for these by including many correlating properties of the strain as possible in the distinctive set, or pattern, used to delineate the species. The distinguishing pattern of correlating properties must be large enough to permit variations by a strain in a few properties (one, two, or three, perhaps) without excluding the strain from the

species; that is, despite some variation, the overall pattern is that of the species. It is the similarities of the strains that are stressed rather than their differences.

This paper is based on one read on 30 August 1983 in Tokyo, Japan, at the Symposium «Taxonomy of food-borne fungi» organized at the Third International Mycological Congress.

REFERENCES

COWAN S.T., 1965 – Principles and Practice of Bacterial Taxonomy - A forward look. *J. Gen. Microbiol.* 39 : 143-153.

DARWIN C., 1859 – On the origin of species by means of natural selection. London, John Murray, 502 p.

GORDON R.E. and MIHN J.M., 1962 – The type Species of the Genus *Nocardia. J. Gen. Microbiol.* 27 : 1-10.

MAYR E., 1965 – Evolution and Diversity of Life : Selected Essays. Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press.

Commission paritaire nº 58611
Dépôt légal nº 12893 - Imprimerie de Montligeon
Sortie des presses le 30 juin 1986
Imprimé en France
Directeur de la Publication : J. Nicot

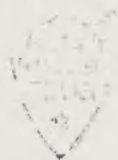


CRYPTOGAMIE – MYCOLOGIE

Les manuscrits doivent être adressés (en 3 exemplaires) directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Chaque membre du Bureau se charge d'envoyer l'article à 2 membres du Comité de Lecture (ou autres lecteurs compétants).

Bien qu'étant avant tout une revue de langue française, les articles rédigés en Anglais, Allemand et Espagnol sont acceptés.

Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le 1er fascicule de chaque tome.



ABONNEMENTS A CRYPTOGAMIE - MYCOLOGIE
Tome 7, 1986

France	250 F
Étranger	280 F

REVUE DE MYCOLOGIE

Prix des Tomes 1 à 43 :	France : 120 F	Étranger : 130 F
Collections complètes :	réduction de 20 [redacted] par tome.	
Prix du fascicule séparé :	France : 35 F	Étranger : 45 F

CRYPTOGAMIE - MYCOLOGIE

Prix des Tomes 1 à 6 :	France : 225 F	Étranger : 250 F
Prix du fascicule séparé :	France : 65 F	Étranger : 75 F

MÉMOIRES HORS-SÉRIE DISPONIBLES

Nº 2 (1942). **Les matières colorantes des champignons**, par I. Pastac. [redacted] pages : 15 F.

Nº 3 (1943). **Les constituants de la membrane chez les champignons**, par R. Ulrich. 44 pages : 15 F.

Nº 6 (1958). **Essai biotaxonomique sur les Hydnés résupinés et les Corticiés**, par J. Boidin. 390 pages, pl. et fig. : 120 F.

Nº 7 (1959). **Les champignons et nous** (Chroniques) (II), par G. Becker. 94 pages : 25 F.

Nº 8 (1966). **Catalogue de la Mycothèque** de la Chaire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. (I) Micromycètes. Macromycètes (première partie). 68 pages : 25 F.

Nº 9 (1967). **Table des Matières** (1936-1965). 85 pages : 20 F. – (1966-1975). 30 pages : 10 F.

FLORE MYCOLOGIQUE DE MADAGASCAR ET DÉPENDANCES
publiée sous la direction de M. Roger HEIM

Tome I. Les Lactario-Russulés, par Roger Heim (1938) *(épuisé)*.

Tome II. Les Rhodophylles, par Henri Romagnesi (1941). 164 pages, 46 fig. : 90 F.

Tome III. Les Mycènes, par Georges Métrod (1949). 144 pages, 88 fig. : 90 F.

Tome IV. Les Discomycètes de Madagascar , par Marcelle Le Gal (1953). 465 pages, 172 fig. : 150 F.

Tome V. Les Urédinées, par Gilbert Bouriquet et J.P. Bassino (1965). 180 pages, 97 fig., [redacted] pl. hors-texte : 90 F.

Règlements :

– *par virement postal au nom de Cryptogamie- Revue de Mycologie 12, rue Buffon, 75005 Paris, C.C.P. PARIS 6 193 02 K;*

– *par chèque bancaire établi [redacted] même ordre.*

